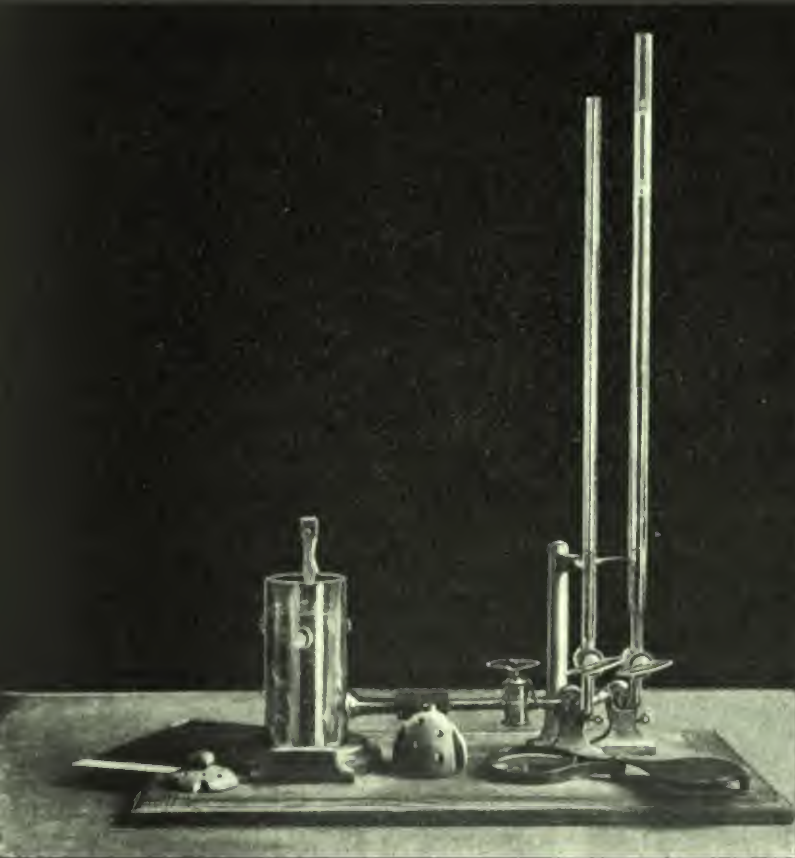
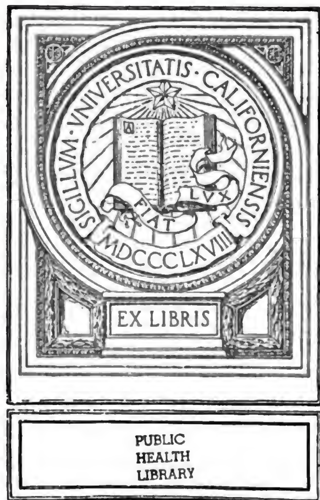


Archiv für Hygiene und Bakteriologie


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

DREIUNDFÜNFZIGSTER BAND.

MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1905.

Inhalt.

Ein Beitrag zur Ätiologie der Hundestaupe.

Von

Dr. **Oskar R. von Wunschheim,**
Assistenten am Institute.

(Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität Innsbruck. Vorstand: Prof. A. Lode.)

Mit der Frage nach dem Erreger der Hundestaupe betritt man ein äufserst strittiges Gebiet, und in den mafsgebenden Kreisen der Forschung gilt diese Frage eigentlich noch als ungelöst. In der neuesten Auflage (1904) des trefflichen Lehrbuches von Friedberger und Fröhner (1) lesen wir noch den Satz: »Die Staupe ist eine kontagiöse Infektionskrankheit, deren Infektionsstoff zurzeit noch nicht mit einwandfreier Sicherheit nachgewiesen ist; es fehlt die Darstellung der Reinkulturen und ihre erfolgreiche Übertragung auf andere Tiere.«

An Bemühungen, den Erreger dieser verheerenden Krankheit aufzufinden, hat es nicht gefehlt, und wenn man die dieser Frage gewidmete Literatur überblickt, so zeigt sich, dafs fast jeder Beobachter einen anderen Erreger verantwortlich macht, und dafs Bakterien, deren Formen und kulturelles Verhalten durchaus untereinander verschieden sind, als die Erreger der Hundestaupe bezeichnet werden. (Vgl. Tab. I pag. 16 u. 17.)

Die Krankheit war nach den Angaben von Laosson (2) schon zu Aristoteles' Zeiten bekannt, auch eine im Jahre 1028 in Böhmen verbreitete Hundeseuche soll eine Staupeepidemie gewesen sein. Bei Friedberger und Fröhner finden wir die

Angabe, dafs die Staupe um die Mitte des 18. Jahrhunderts aus Amerika (Peru) nach Europa verschleppt worden sei, und zwar zuerst nach Spanien, von da nach Frankreich, Deutschland und den übrigen Ländern. Nach Frankreich soll sie etwa im Jahre 1740, nach Deutschland ums Jahr 1748, nach Italien 1764‘ nach England 1760, nach Rufsland 1770 vorgedrungen sein. Heute ist wohl kein Land mehr von ihr verschont.

Die Seuche ist unter den verschiedensten Bezeichnungen bekannt. In Deutschland wird sie mit dem Namen Sucht, Hundepest, Hunderotz, Hundekrankheit, Hundeseuche, Hundeschwachheit, Laune, Katarrhalfieber, Radeseuche belegt; in Frankreich heifst sie maladie du jeune âge, fièvre typhoïde, peste canine, catarrhe des chiens, pneumonie infectieuse et typhus des chenils, variole du chien, maladie oder morve; sie wird in England distemper, in Italien cimurro, in der Republik Argentinien moquillo genannt.

Das klinische Bild ist ein äufserst mannigfaltiges. Es äufsert sich meist in einer infektiösen, katarrhalischen Erkrankung der Schleimhäute der Augen, des Respirations- oder Digestionstraktus, oft kompliziert mit schweren Erscheinungen von seiten des nervösen Apparates, oft begleitet von fast immer tödlichen Pneumonien und mitunter durch Auftreten eines pustulösen Ausschlages auf der Bauchhaut und Innenseite der Schenkel charakterisiert. Je nach dem Vorwiegen der einen oder anderen Krankheitserscheinungen pflegt man die Hundestaupe einzuteilen in:

1. Die katarrhalische Form,
2. die gastrische,
3. die nervöse und
4. die exanthematische Form der Staupe.

Natürlich sind Vermischungen der Typen häufig zu sehen.

Bezüglich der Schwere der Erkrankung unterscheiden wir hochakute (septikämische), subakute und chronische Formen, letztere meist in schwere Kachexien ausgehend. Bezüglich genauerer Details sei auf das oben zitierte Lehrbuch von Friedberger und Fröhner (1) verwiesen.

Die ältesten Literaturangaben über die Krankheit sind wohl die von Taplin (3) und Donauer (4).

Die Tatsache, dafs wir es bei der Hundestaupe mit einer Infektionskrankheit zu tun haben, wurde schon frühzeitig erkannt und legen die Arbeiten von Waldinger (5), v. Gemmeren (6) und Delabère-Blain (7) hiervon Zeugnis ab.

Die ersten erfolgreichen Impfversuche dürften Renner und Karle (8) zu verzeichnen haben.

Die Experimente von Trastowo (9) wiesen nach, dafs die Staupe für junge Hunde, die die Seuche noch nicht durchgemacht hatten, ansteckend, dafs sie direkt und indirekt übertragbar sei, und dafs auch ältere Tiere krank gemacht werden könnten.

Trasbot (10) hatte anfangs kein Glück mit seinen Übertragungsversuchen; später gelangen ihm diese, als er Nasenausflufs mit Bläschensekret gemischt, in skarifizierte Partien der Bauchgegend verrieb. Nach 8 Tagen erkrankten die Versuchstiere Trasbots, welche zwischen 13 Tagen bis zu $3^1/_2$ Monaten alt waren. Auch den Nachweis, dafs durch blofses Zusammenwohnen die Krankheit übertragen werden könne, erbrachte der genannte Untersucher.

Venuta (11) gibt das Inkubationsstadium mit 4—6 Tagen an, bestätigt, dafs durch Zusammenwohnen Infektion möglich sei, und berichtet, dafs das Kontagium genügend widerstandsfähig sich erweise, um Trocknen an der Luft bis zu einem gewissen Grade zu ertragen.

Krajewski (12) verfügt über Impfversuche an 36 Tieren, von denen allerdings die gröfsere Hälfte nicht erkrankte, nach Ansicht des Autors vielleicht deshalb nicht, weil sie die Krankheit schon durchgemacht hätten. Das Inkubationsstadium gibt Krajewski mit 4—7 Tagen an, Exantheme hat er selten und nur bei sehr schweren Fällen beobachtet; bei leichten Erkrankungen erfolgte Genesung schon nach 6—8 Tagen, nach einmaligem Überstehen der Krankheit trat meist Immunität ein. Das Kontagium haftete am Nasen- und Augenausflufs sowie am Blute; durch Eintrocknen und Gefrierenlassen bis zu 20° C wurde es nicht zerstört, jedoch durch monatelanges Aufbewahren in

trockenem Zustande in seiner Wirkung abgeschwächt. Krajewski hat bei der Impfstaupe eine Mortalität von nur 10—15 % konstatiert und empfiehlt deshalb die Staupeimpfung als vorbeugende Mafsregel.

Laosson (2) hat durch 98 an Hunden und Katzen gemachte Impfversuche die kontagiöse Natur der Staupe sicher erwiesen, auch zeigte er, dafs Katzen- und Hundestaupe identisch und gegenseitig übertragbar ist. Ältere Tiere wurden seltener angesteckt als solche in jugendlichem Alter, einmaliges Überstehen der Krankheit verlieh eine gewisse Immunität. Der Nasenausflufs verlor seine Infektionsfähigkeit nach 14 Tagen, der Inhalt der Pusteln erwies sich als unwirksam. Das Inkubationsstadium betrug 4—7 Tage.

Es möge nicht unerwähnt bleiben, dafs Trasbot(10) und mit ihm eine Reihe von anderen, meist französischen Autoren die Staupe als echte Pockenkrankheit aufgefafst wissen wollten, was dazu führte, dafs eine Menge von erfolglosen Versuchen angestellt wurde, mittels Kuhpockenimpfung der Staupeinfektion vorzubeugen.

Dupuis (13) hat die Trasbotsche Auffassung widerlegt, da es ihm in keinem Falle gelang, bei jungen Hunden durch Vakzineimpfungen eine Immunität gegen Staupe zu erzeugen. Doch hält Trasbot auch heute noch an seiner Theorie fest, worauf wir weiter unten noch zurückkommen wollen.

Impfversuche, die Konhäuser (14) mit Pustelinhalt vornahm, hatten einen negativen Erfolg, auch die Bemühungen von Jefs (26), durch den Pustelinhalt staupekranker Hunde die Staupe zu übertragen, blieben erfolglos.

Mit der Verbesserung der Mikroskope und dem beginnenden Verständnis für bakteriologisches Arbeiten wurde naturgemäfs das Interesse an der ätiologischen Erforschung der Hundestaupe in exaktere Bahnen der Untersuchung gelenkt und zahlreiche, leider aber vielfach recht lückenhafte Beobachtungen über Bakterien als Erreger dieser Krankheit erscheinen in der neueren Literatur.

Wie Waldinger, v. Gemmeren und Mecke sowie Delabère-Blain die ersten waren, welche den Charakter der

Hundestaupe als Infektionskrankheit richtig erkannten, so waren es Semmer (15), Krajewski (12) und Laosson (2), welche zuerst berichteten, dafs sie im Blute von staupekranken Hunden Mikroorganismen gefunden hätten, welche sie für die eigentlichen Staupeerreger hielten. Semmer und Laosson hatten kleine, äufserst zarte Stäbchen, Krajewski Mikrokokken beobachtet.

Ein Jahr nach Laosson machte Rabe (16) die Mitteilung, dafs er in dem eitrigen Inhalte der Pusteln, im Nasenausflufs und im Konjunktivalsekret staupekranker Hunde Pilze gefunden habe, welche er als die Infektionserreger verantwortlich macht; sie zeigten sich als kleinste, kaum mefsbare Kügelchen, in kleinen unregelmäfsigen Häufchen zusammenliegend oder sarcineartig zu 2—4 miteinander verbunden oder aber zu 4—5 perlschnurartig aneinander gereiht. Mit Methylviolett färbten sie sich dunkelblau. Diese Bakterien fanden sich im Nasensekret der erkrankten Tiere um so zahlreicher, je schwerer diese erkrankt waren, und sie verschwanden aus dem Sekret vollständig in der Rekonvaleszenz.

Friedberger (17) verzeichnet denselben Befund wie Rabe, steht aber der spezifischen Natur der beschriebenen Mikroorganismen sehr skeptisch gegenüber.

Im Jahre 1887 fand Mathis (18) in den Säften, Geweben, im Auswurf und den Pusteln staupekranker Hunde einen »spezifischen« Diplokokkus. Mathis züchtete denselben in neutraler oder leicht alkalischer Bouillon in Reinkultur. Durch Verimpfung der Reinkulturen wurden Krankheitserscheinungen hervorgerufen, welche mit den bei der Staupe beobachteten übereinstimmten (Temperatursteigerung, Pusteln usf.). Ganz junge Tiere starben oft infolge der Impfung, geimpfte erwiesen sich als immun.

Marcone und Meloni (19) fanden Mikroorganismen, welche grofse Ahnlichkeit mit dem Staph. pyog. aureus hatten.

Jacquot und Legrain (20) wiesen im Pusteleiter Mikrokokken nach, 0,6—0,8 μ im Durchmesser haltend, zu Diplokokken vereint und mit Beweglichkeit ausgestattet. Impfungen mit diesen Kokken erzeugten zwar Pusteln an der Impfstelle, jedoch keine Staupeerkrankung.

Galli-Valerio (21) beschreiben des ausführlichen einen Bazillus, welchen sie aus den Lungen, dem Gehirn, aus dem Rückenmark, aus dem Konjunktivalsekret, sowie aus dem Exsudat der Rückenmarkshaut erkrankter Tiere isoliert hatten. Auch im Eiter der Sinus frontales fand sich der erwähnte Mikroorganismus. Dieser »Ovalbazillus« der italienischen Autoren stellt ein Stäbchen von 1,25—2,5 : 0,3 μ dar, welches durch Beweglichkeit ausgezeichnet ist, die Gramsche Färbung annimmt und Sporen bildet. Es wächst auf der Agarplatte in Form von »kleinen, weifsen Punkten, welche zu einer weifslichen Platte zusammenfliefsen«, in Gelatine zeigen sich nach 24 Stunden Gasblasen längs des Stiches, ferner beobachtet man Trichterbildung ohne Verflüssigung. Peptonbouillon zeigt bei 18—20° C nach 24 Stunden Trübung ohne Bodensatz, nach einigen Tagen bilden sich Flocken am Boden des Kulturgefäfses. Auf Kartoffeln sieht man nach 24 Stunden eine weifsliche Auflagerung. Milch gerinnt nicht, Indol wird nicht gebildet, mit Milchzucker versetzte Peptonbouillon wird nicht vergoren. Der Impfversuch versagte bei alten Hunden, ein 5 Monate altes Tier gab alle Symptome der Staupe. Für Kaninchen und Meerschweinchen war der Pilz nicht pathogen.

Babes und Barsanescu (22) haben in zwei Fällen einen Mikroorganismus gezüchtet, der als feiner, beweglicher Bazillus von 0,3—0,4 μ beschrieben wird, keine Sporen bildete und sich gramnegativ verhielt. Von 9 geimpften jungen Hunden gingen 7 innerhalb von 10—18 Tagen an Staupe zugrunde.

Millais (23) fand einen Bazillus, der dem Pneumoniebazillus ähnlich war, aufserdem noch Mikrokokken. Wurde jungen Hunden ein Gemisch beider Kulturen in die Nase eingerieben, so erkrankten dieselben leicht an Staupe.

Der Ansicht von Jensen (24), der die Staupepneumonie als durch Streptokokken hervorgerufen annimmt, müssen wir auf Grund unserer Erfahrungen und Experimente widersprechen.

Taty und Jacquin (25) wiesen bei der nervösen Staupe im Zentralnervensystem Diplokokken nach und halten dieselben für die Krankheitserreger.

Jefs (26) meint, in einem Stäbchen von 1,8—2,3 : 0,6—0,9 μ, das sich grampositiv verhält und beweglich ist, den Erreger der Hundestaupe vor sich zu haben. Dieses Stäbchen wächst auf der Kartoffel als weifser, samtartiger Belag und ist nach Jefs für Meerschweinchen, Katzen und Hunde pathogen. Jefs hält seinen Bazillus für absolut verschieden von allen bei Staupe früher beschriebenen und gibt an, durch Verimpfung der Reinkultur Hunde staupekrank gemacht zu haben.

Petropawlowsky (27) beschreibt als Erreger der Staupe einen Mikroorganismus, der grofse Ähnlichkeit mit dem 1895 von Galli-Valerio und 1896 von Babes und Barsanescu beschriebenen aufweisen soll. Kulturen, Hunden intraperitoneal oder subkutan einverleibt, erzeugen Staupesymptome und Eiterung an der Injektionsstelle mit Ausgang in Tod oder Genesung. Blutserum genesener Hunde agglutiniert den Bazillus, welcher noch für Mäuse (weifs und grau), weifse Ratten und Meerschweinchen Pathogenität besitzt. Petropawlowsky findet seinen Mikroorganismus sehr ähnlich dem Bacterium coli, Bazillus Friedländer, Rotzbazillus, besonders aber dem Pestbazillus.

Mari (28) erklärt den Petropawlowskyschen Erreger kurzweg für ein Bacterium coli.

Von ganz besonderem Interesse erscheint uns eine im Jahre 1900 publizierte Arbeit von Lignières (29), welche sich u. a. auch mit der Frage nach dem Erreger der Hundestaupe intensiv befafst, und hier ausführlicher besprochen werden soll, schon aus dem Grunde, weil die in Buenos-Aires erschienene Publikation des französischen Autors im allgemeinen schwer zugänglich sein dürfte.*)

Die Ansicht von Lignières, es müfsten aus der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie der herrschenden Verwirrung wegen — »il n'est pas un auteur qui n'ait reconnu la nécessité de mettre un peu d'ordre dans ce groupe des mala-

*) Herrn Professor Dr. Th. Kitt in München, welcher die Güte gehabt hat, mir sowohl seine Privatbibliothek als auch die seines Institutes zur Verfügung zu stellen, sei auch an dieser Stelle nochmals mein ergebenster Dank ausgesprochen.

dies causées par les bacteries ovoïdes, d'établir une classification ou des classifications nouvelles« — zwei Gruppen herausgehoben werden, die Gruppe der »Pasteurellosen« und die »Salmonellosen« (Typus Hog choléra Salmons) hat wenig Freunde gefunden.

Montfallet([53]) und Boschetti([52]) konnten sich mit Lignières nicht einverstanden erklären. Auch Kitt([80]) erscheint die Neubenennung bekannter Bakterien unnötig und willkürlich, sowie der alte Name, welcher den Charakter der Krankheit ausdrückt, passender.

Lignières verlangt als spezifische Charaktere der Pasteurella: unbewegliche, sehr polymorphe und involutionsfähige Kokkobazillen, welche Gelatine nicht verflüssigen, Milch nicht koagulieren, auch deren Reaktion nicht verändern, keine sichtbare Kultur auf natürlich sauerer Kartoffel geben, kein Indol bilden, keine Sporen und keine Geifseln besitzen. Der Geruch sei »sui generis«, die meist grofse Virulenz variabel. Bei intravenöser Einverleibung »affinité spéciale pour les synoviales tendineuses et articulaires.«

Die Gruppe wird streng kategorisch begrenzt durch Lignières' Ausspruch »l'absence de l'un ou de l'autre (dieser Merkmale) exclue le microbe du Groupe des Pasteurella«. Sonst wäre noch »comme indication générale« hinzuzufügen, dafs Polfärbung, mitunter äufserst zartes (discrètement) Wachstum und grofse Schwierigkeit des Nachweises im Organismus zu bemerken sind.

Zur Gruppe der Pasteurellosen zählt Lignières:

1. Pasteurellose aviaire (choléra des poules, septicémie des lapins etc.).
2. P. porcine (Schweineseuche, swine-plague, pneumoentérite, peste du porc etc.).
3. P. ovine (pneumoentérite, septicémie hémorragique du mouton, Lombriz, Cachexie aqueuse etc.).
4. P. bovine (Wildseuche, Rinderseuche, Barbone des buffles, entéqué).
5. P. équine (affections typhoides du cheval avec toutes leur formes et leurs complications).

6. P. canine (maladie des chiens dans toutes ses manifestations).

Im Jahre 1896 fiel Lignières gelegentlich seiner Untersuchungen über die typhoiden Erkrankungen beim Pferd die grofse Ähnlichkeit dieser Affektion mit der Hundestaupe auf. Versuche, einen spezifischen Erreger zu finden, mifsglückten, Impfversuche mit gefundenen Mikroorganismen fielen negativ aus.

Erst viel später züchtete Lignières aus dem Blute eines sehr jungen Hundes, welcher einer akuten Pneumonie erlegen war, ein kurzes Stäbchen, welches alle Charaktere der »Pasteurella« zeigte. Die Lunge dieses Tieres ergab einen andern Mikroorganismus. Aufserdem will Lignière bei zwei Zwingerepidemien, deren Fälle ihm Métivet und Trasbot zur Verfügung stellten, dasselbe Stäbchen gefunden haben. Die Epidemie Métivets war septikämischen, die von Trasbot gastroenteritischen hochakuten Charakters mit Ikterus einhergehend.

Soweit seien Lignières' Untersuchungen gediehen gewesen, als er in Mission des Instituts Pasteur nach Buenos-Aires geschickt wurde, wo sich ihm ein günstiges Feld der Beobachtung bot, da, wie er sagt, die Bewohner Argentiniens grofse Hundefreunde sind, auch viel reine Rassen gezüchtet werden, die ja bekanntermafsen viel empfindlicher gegen die Staupe sind als Kreuzungen oder Bastarde.

Lignières unterläfst es leider, in seiner Publikation uns mitzuteilen, aus welchen Organen der Tiere er seinen »Kokkobazillus« gezüchtet hat, ob er ihn oft oder selten angetroffen hat; er teilt uns kein einziges Sektionsprotokoll mit, sondern er begnügt sich damit, uns zu versichern »l'orsqu'on retire le microorganisme du chien il se présente sous la forme des bacilles assez longs, ne ressemblant pas beaucoup aux Pasteurella«. Nach der ersten Passage durch das Meerschweinchen »l'aspect du microbe commence à changer et bientôt il se montre sous la forme coccobacillaire si charactéristique«, ein Befund, den wir durchaus nicht bestätigen können.

Der Lignièresche Mikroorganismus färbt sich gut mit den gewöhnlichen Anilinfarben, nicht nach Gram. Involu-

tionsformen sind häufig, Beweglichkeit fehlt. Er wächst gut bei 37° C, jedoch auch bei 18 oder 20°, manchmal sogar bei letzterer Temperatur besser als bei 37° C. In neutraler oder leicht alkalischer Bouillon gedeiht er besser als in »Bouillon simple«. Säure unterdrückt das Wachstum. Die Bouillonkultur zeigt jedoch nicht die charakteristische Eigenschaft der »Pasteurella«, eine gleichmäfsige Trübung, sondern äufsert sich in Flöckchenbildung bei erhaltener Durchsichtigkeit der Nährflüssigkeit. Diese, von Lignières als charakteristisch bezeichnete Eigenschaft verliert sich jedoch nach seiner Aussage mit der Zeit, insbesondere nach Passagen durch das Meerschweinchen (in einem Falle nach der 20. Passage). Dann zeigt die Bouillon das Verhalten wie alle »Pasteurellosen«, eine diffuse Trübung. Kleine Serummengen, der Bouillon zugesetzt, begünstigen das Wachstum, Glyzerin zeigt keine merkbare Wirkung.

Milch wird nicht koaguliert, die Reaktion wird nicht verändert.

In Pankreasbouillon reichliches Wachstum, Indolbildung findet nicht statt.

Auf der Gelatineplatte erscheinen nach 36—40 Stunden kleine, runde, punktförmige Kolonien, die, erst durchsichtig, nach 8—10 Tagen weifslich opak erscheinen.

Im Gelatinestich entwickelt sich die Kultur längs des Stiches entweder in Form von kleinen weifslichen Kolonien oder in Form eines Streifens von gleicher Farbe. Die Kultur erscheint an der Oberfläche erst durchsichtig, dann opak, rund, und erreicht niemals die Wand der Eprouvette.

Der Gelatinestrich erscheint als ein weifser, irisierender Streifen, der später opak wird, und auch hier niemals bis an den Rand des Kulturgefäfses vordringt. Die Gelatine wird nicht verflüssigt; Kolonien, die mehrere Tage alt sind, haften fest an der Unterlage und lassen sich nur schwer abheben.

In der Agarplatte ist die Entwicklung rascher und reichlicher als in Gelatine. Die ersten Kulturen wachsen als kleine, streptokokkenähnliche Kolonien, nach einigen Passagen werden sie jedoch voluminöser und glänzend. Auf die Dauer behält dann die Kultur das opake Aussehen und die weifsliche Farbe.

Im Agarstich Wachstum längs des Stiches, opak, ohne die Wand des Reagensglases zu erreichen.

Auf Serum ist das Wachstum zart, aber oft auch dann noch in Erscheinung tretend, wenn die Agarkultur versagt.

Auf der Kartoffel mit unbewaffnetem Auge kein sichtbares Wachstum zu bemerken.

Was nun die Impfversuche von Lignières anbelangt, so stellt er die Behauptung auf, dafs die frisch aus dem Hunde gewonnene Kultur relativ wenig virulent für andere Tiere sei mit Ausnahme der Katze, wiederum eine Beobachtung, die wir nicht bestätigen können.

Subkutane Impfungen von Mäusen mit 4—8 Tropfen Peptonbouillon blieben oft ohne Erfolg; an der Impfstelle bildete sich meist nur eine intensive Schwellung, die nach und nach verhärtete. In anderen Fällen trat nach 2, 3 oder 4 Tagen der Tod ein. Intraperitoneale Einverleibung tötete innerhalb von 24 Stunden unter dem Bilde der Peritonitis.

Meerschweinchen erwiesen sich für intraperitoneale und subkutane Impfung empfänglich; 1 ccm Bouillonkultur, intraperitoneal gegeben, tötete innerhalb von 24 Stunden, subkutan hatten 5 ccm binnen 2 Tagen denselben Erfolg.

Auch das Kaninchen erlag innerhalb von 24—48 Stunden der intravenösen, subkutanen oder intraperitonealen Infektion.

Für Hunde verwendete Lignières mit Erfolg Bouillonkulturen von frischen Fällen. Passagen durch Meerschweinchen können die Virulenz für den Hund erheblich herabsetzen. 1 bis 2 ccm von Peptonbouillonkultur bewirken, subkutan injiziert, innerhalb von 24 Stunden eine sehr schmerzhafte Schwellung um die Injektionsstelle. Bei älteren Hunden pflegt sodann gegen den dritten Tag eine starke Abmagerung und Ausgang in Eiterung oder Resorption einzutreten. Die Wunde heilt rasch. Bei sehr jungen Hunden finden wir starkes Ödem, Schwellung der regionären Lymphdrüsen, schwere Eiterungen, oft mit Ausgang in Tod am vierten oder fünften Tage nach der Infektion. Durch intravenöse Injektion will Lignières die verschiedenen Formen der Staupe hervorgerufen haben: die septikämische mit Gastroen-

teritis, Pleuroperikarditis mit Arthritis und Gastroenteritis, Gastroenteritis allein, Gastritiden mit Hautpusteln, die nervöse Form, Gelenkaffektionen mit anschliefsender Kachexie, endlich auch die mit schwerer Pneumonie komplizierte Form.

Durch Zusammenwohnen kranker und gesunder Hunde wurden letztere infiziert, Verfütterung der Reinkulturen in Milch hatte keinen Erfolg, ebenso mifslangen Versuche, die Krankheit durch Einverleiben von Blut, Eingeweidestückchen oder pathologischen Produkten zu übertragen. Nur ganz ausnahmsweise gelingt die Übertragung mit dem Auswurf, dem serösen Brustinhalt oder Blut bei subkutaner, hauptsächlich aber intravenöser Einverleibung. Durch Einreiben der Nase mit Auswurf sind die Aussichten auf die Übertragung wesentlich gröfser.

Bezüglich der in manchen Fällen von Staupe auftretenden Pusteln der Haut steht Lignières auf dem Standpunkte, dafs wir es hier mit einer Sekundärinfektion zu tun haben, wie sie sich auch beim Pferd, Schwein und Schaf findet, während Trasbot, wie oben erwähnt, gerade in den Pusteln das Charakteristische der Staupe zu sehen gewohnt ist. Lignières hat niemals in den Pusteln »Pasteurella« gefunden, auch ist es ihm nicht geglückt, mit deren Inhalt die Krankheit zu übertragen; die Pustelflüssigkeit erzeugt, verimpft, lediglich eine lokale Läsion, keine Allgemeinerkrankung, was schon vor Lignières Laosson(²), Konhäuser(¹⁴) und Jefs(²⁶) festgestellt hatten.

Kitt(⁶⁰) wies schon im Jahre 1884 nach, dafs sich in dem eitrigen Inhalte der Pusteln verschiedene Bakterien befinden, und gelang es ihm auch, durch Verreiben des Eiters oder der rein kultivierten Mikroorganismen auf der leicht skarifizierten Bauchhaut junger Hunde einen pustulösen Ausschlag zu erzeugen, ohne dafs jedoch das Krankheitsbild der Staupe auftrat.

Ein Jahr nach dem Erscheinen der eben besprochenen Arbeit von Lignières machte Phisalix(³¹) Mitteilungen über dasselbe Arbeitsgebiet. Er erinnert zunächst daran, dafs er früher einmal (³²) gezeigt habe, dafs ein Bazillus, den er gelegentlich einer Meerschweinchenepidemie isoliert hatte, auch für den Hund sehr virulent gewesen sei. Je nach Dosis und Virulenz tötete

dieser Mikroorganismus mit akutester Erkrankung innerhalb von 8—10 Stunden oder auch langsamer entweder die gastro-intestinale oder chronische Form, mit Ausgang in Kachexie hervorrufend. Der Eindruck dieser Krankheitsbilder wäre der der »maladie des chiens« gewesen. Phisalix hatte bei Hunden, die an Staupe zugrunde gegangen waren, verschiedene Bakterien, zumeist Streptokokken gefunden, doch blieben Inokulationsversuche resultatlos. Nach Erscheinen der Arbeit von Lignières(29) war Phisalix der Ansicht, dafs die morphologischen und biologischen Charaktere seines Bazillus der »septicémie du cobaye« vollständig gleich seien mit denen der »Pasteurellose canine« und versuchte neuerdings den fraglichen Bazillus bei staupekranken Hunden zu finden.

Es gelang Phisalix auch, wie er berichtet, in einer beträchtlichen Anzahl von Fällen, die ihm Laurent und Saint Yves zur Verfügung stellten, »le microbe spécifique« zu isolieren. Am besten gelang die Reinkultur (aus Blut und den Organen des Hundes), wenn man das Tier tötete, ehe noch eine Sekundärinfektion eingetreten war. Jedoch auch auf dem Wege gelang die Isolierung, dafs Phisalix die aus Cerebrospinalflüssigkeit gewonnenen Kulturen einem Meerschweinchen intraperitoneal einverleibte; im Peritonealexsudate gelangte nur der fragliche Mikroorganismus zur Entwicklung und Übertragungen in Bouillon liefsen in Reinkultur einen Bazillus gewinnen, welcher kulturelle Eigenschaften besafs, die dem aus Meerschweinchen gezüchteten Erreger der »septicémie du cobaye« äufserst ähnlich waren. Nur die Virulenz war für das Meerschweinchen geringer.

Dem Hunde gegenüber erwiesen sich beide Arten gleich pathogen, es trat bei intravenöser Einverleibung der Tod zwischen 5—10 Stunden ein, eventuell auch kam es zu langsamerem Verlauf mit verschiedenen klinischen Formen. Den manchmal äufserst rasch eintretenden Tod (innerhalb von 4—5 Stunden) schreibt Phisalix dem gelösten Gifte (es handelt sich wohl immer um Bouillonkulturen) zu, und bemerkt, dafs man in solchen Fällen oft die aus Blut angelegten Kulturen steril findet.

In der Folge berichtet Phisalix noch, dafs das gelöste Gift schwer von den Mikroben zu trennen sei, weil es Filter nicht passiere, und dafs das Gift durch Hitze inaktiviert wird.*)

In einer Sitzung der Société centrale de Medécine Vétérinaire teilt Lignières (35) mit, dafs er, um seinen Erreger der »Pasteurullose canine« mit dem von Phisalix gefundenen Mikroorganismus identifizieren zu können, Phisalix um Übersendung einer Kultur gebeten habe. Da nun Phisalix dem Wunsche von Lignières nicht entsprochen habe, sah sich letzterer gezwungen, aus der Vakzine von Phisalix dessen Bazillus herauszuzüchten. Der Vergleich beider Bakterien ergab nach Lignières' Mitteilung völlige Identität in kultureller und pathogener Hinsicht. In der an diese Ausführungen sich anschliefsenden Diskussion betont Trasbot (35), dafs er nicht glaube, dafs Lignières den Erreger der Hundestaupe in Händen habe. Trasbot hält die Pusteln für das alleinige Kriterium der Staupe, und weil Lignières nicht aus diesen seinen Kokkobazillus gezüchtet hat, will Trasbot denselben nicht im Sinne desselben gedeutet haben und erklärt die Erkrankungen des Respirationstraktus, die Pneumonie, die gastrischen Erscheinungen, die Krampfanfälle usw. als durch Sekundärinfektionen verursacht, und behauptet, dafs immer während der ersten Woche der Erkrankung am Bauche und an der Innenseite der Schenkel die typischen Pusteln zu finden seien.

Bezüglich der Auffassung der Hundestaupe in bakteriologischer Hinsicht möge auch die Ansicht von Schantyr (34) nicht unerwähnt bleiben. Der genannte Autor ist der Meinung, dafs der als Staupe bekannte Symptomenkomplex in drei verschiedene Krankheiten zerlegt werden müsse, die durch drei sowohl morphologisch als auch kulturell und in ihrer pathogenen Wirkung durchaus verschieden sich verhaltende Mikroorganismen verursacht werden; ja, Schantyr meint sogar, dafs aufer diesen drei noch andere ätiologisch verschiedene Krankheiten bisher

*) In unseren Versuchen konnten wir mit Bouillonkulturfiltraten (Berkefeld) Kaninchen töten und einen Hund schwer krank machen, was wohl nur durch Giftwirkung erklärbar ist.

mit dem Namen Staupe benannt worden seien. Friedberger und Fröhner (1) lehnen diese Auffassung energisch ab und auch wir möchten uns nach unseren Erfahrungen ihrem Urteile anschliefsen.

Hundestaupe und Stuttgarter Hundeseuche (Hundetyphus).

Im August 1898 wurde in Stuttgart eine Hundeseuche beobachet, über die als Erster Klett (35) berichtet, der sich auf den Standpunkt stellt, dafs diese Seuche eine von der Hundestaupe streng zu unterscheidende Krankheit sei.

Weitere Beobachtungen stammen von Albrecht (36) in München, Scheibel (37) in Frankfurt a. M., Richter (38) in Dessau, Mattel (39) in Mödling, Tremmel (40) in Wien und Gundelach (41) in Magdeburg. Zschokke (42) hat die »Stuttgarter Hundeseuche«, wie sie nunmehr genannt wird, in Zürich, Trévisan (43) in Venedig beobachtet und beschrieben. In Frankreich wurde sie von Huet, Brun, Frégis (44), Guillemard und Chigot (45), Ducourneau (46) und Ben Danou (47) studiert.

Bimes und Sérès (48) berichten über dieselbe in Toulouse beobachtete Seuche, stellen sich aber in schroffem Gegensatz zu Klett, indem sie erklären, die »Stuttgarter Hundeseuche« sei nichts anderes als Hundestaupe. Sie stützen ihr Urteil auf die nicht zu unterschätzenden Befunde von Leclainche und Vallée, welche in den von den Verfassern klinisch und pathologisch-histologisch genauest studierten Fällen durchaus Bakterien vom Typus Pasteurella (Lignières) gefunden haben wollen. Da aber auch andere Forscher wie Scheibel, Richter und Pirl sowie Zschokke bei ihren Fällen von »Stuttgarter Hundeseuche« »ovoide«, wie sie sagen, hühnercholeraähnliche Bakterien gefunden haben, so ist es anzunehmen, dafs sich in Zukunft die Mehrzahl der Bakteriologen vielleicht auf den unitarischen Standpunkt stellen wird.

Tabelle I. **Verhalten der als Staupeerreger beschriebenen Mikroorganismen.**

Autor	Fundort	Form	Beweglich	Verhalten gegen Gram	Gasbildung	Sporen	Bouillon	Milchgerinnung	Indolbildung	Vergärung	Kartoffel	Pathogen für
Semmer und Laosson	Blut	Zarte Stäbchen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Krajewski	—	Mikrokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rabe (Friedberger)	Pustelinhalt, Nasen- und Konjunktivalsekret	Sehr kleine Kokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mathis	Säfte, Gewebe, Auswurf, Pusteln	Diplokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Hund
Marcone und Meloni	—	Kokken, ähnlich dem Staph. pyog.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Jacquot und Legrain	—	Diplokokken	ja	—	—	—	—	—	—	—	—	Beim Hund nur Pustelbildung, keine Staupeerkrankung
Galli-Valerio	Lunge, Gehirn, Rückenmark, Sekrete, Eiter d. sinus frontal	Ovalbazillus 1,25—2,5 : 0,5 μ	ja	positiv	In Gelatine längs des Stiches	ja	—	nein	nein	nein	Weifsliche Auflagerung	Junge Hunde, nicht für Meerschweinchen und Kaninchen
Babes und Barsanescu	—	Feiner Bazillus von 0,3—0,4 μ	ja	negativ	—	nein	—	—	—	—	—	Junge Hunde

Millais	—	Ein dem Pneumoniebazillus ähnlicher Baz. u. Mikrokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Junge Hunde
Jensen	—	Streptokokken als Erreger der Staupepneumon.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Taty u. Jacquin 1898	Zentralnervensystem	Diplokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Jeſs 1899	Nasendejekt	Stäbchen von 1,8-2,3 : 0,6-0,9 μ	ja	positiv	—	—	Trübung	—	—	—	Weiſser samtartig. Belag	Meerschweinch., Hunde, Katzen
Petropawlowsky 1899	—	Ähnlich d. Baz. von Babes und Barsanescu und Galli-Valerio	—	negativ	—	—	—	—	—	—	—	Weiſse u. graue Mäuse, weiſse Ratten, Meerschwein., Hunde
Lignières 1900	—	Kokkobazillus	nein	negativ	—	—	Flöckchenbildung, keine Trübung	nein	nein	—	Kein sichtbares Wachst.	Maus, Meerschw., Kaninch., Hund, Katze
Verfasser 1904	Nasensekret, Herzblut, in Exsudaten, Leber, Milz, Nieren	Kokkobazillus 0,3-0,5 : 0,75-1,5 μ	nein	negativ	ja	nein	Diffuse Trübung, Kahmhaut	nein	nein	ja	Sichtbarer schmieriger weiſslicher Belag, eventuell Bräunung	Maus, junge Ratte, Meerschw. Kaninch., Huhn, Taube, Hund, Katze
Kulturelles Verhalten der Hühnercholera nach Flügge (Kruse) und eigenen Kulturen	—	Kokkobazillus 0,4-0,6 μ : 1 μ	nein	negativ	—	nein	Diffuse Trübung	ja	ja	—	—	Vögel, Mäuse, Meerschweinch., Kaninchen

Mouquet ([49]) führt gegen die Identität von Hundestaupe und »Stuttgarter Hundeseuche« (Typhus du chien) vor allem den Einwand ins Feld, dafs letztere Krankheit im Gegensatz zur Staupe vornehmlich ausgewachsene und alte, sehr selten nur junge Hunde befalle, (eigene Beobachtungen von Mouquet und Ducourneau), sowie dafs nervöse Komplikationen beim »Typhus du chien« fehlen sollen.

M. Butel ([50]), der ebenfalls Anhänger der Verschiedenheit von Hundestaupe und Hundetyphus ist, legt viel Gewicht auf den Umstand, dafs die gegen Staupe erworbene Immunität, welche immerhin nicht zu verachten sei, keinen Schutz gegen die Infektion mit Hundetyphus gewähre, und dafs typhuskranke Hunde, solche, die die Staupe schon einmal überstanden hatten, tödlich zu infizieren imstande waren.

Wenn man der Auffassung Rechnung trägt, dafs die Hundestaupe und der Typhus der Hunde (Stuttgarter Hundeseuche) durch einen Erreger verursacht und nur durch ihren verschieden grofsen Virulenzgrad unterschieden sein sollen, so erscheint uns gewifs höchst merkwürdig, dafs gerade bei den durch gröfsere Virulenz der Erreger ausgezeichneten Epidemien (Stuttgarter Hundeseuche, Typhus du chien der Franzosen) die wohl zweifellos durch Toxinwirkung ausgelösten schweren nervösen Symptome fehlen sollen (Mouquet), während bei den Epidemien minderer Virulenz (Hundestaupe) nervöse Symptome so überaus häufig beobachtet werden. Aber Bimes und Sérès ([48]) geben uns da die Versicherung, dafs auch beim Hundetyphus nervöse Symptome durchaus geläufige Erscheinungen seien. Und die Tatsache, dafs Hunde, welche die Staupe durchgemacht hatten, an »Typhus de chien« erkrankten, kann man wohl leicht gerade durch eine gesteigerte Virulenz des gemeinsamen Erregers erklären, zumal ja bekannt ist, dafs Hunde mehrmals an Staupe erkranken können.

Bezüglich des viel erwähnten Kokkobazillus sei noch erwähnt, dafs Lignières mitteilt, seine »Pasteurellose canine« auch im Nasenraum und im Speichel gesunder Hunde gefunden zu haben; sie sei wenig virulent gewesen und besser bei 20° C

als bei 37° C gewachsen. Ebenso hat Lignières Pasteurella im Nasenraum von Schafen und Pferden gefunden.

Bisanti ([51]) hat bei Untersuchungen über die Bakterienflora des normalen Hundes bei zehn untersuchten Fällen einmal eine »Pasteurella« im Darminhalt vorgefunden.

Eigene Beobachtungen.

Die Staupeepidemie, über welche wir berichten wollen, wurde nachweislich von aufsen in einen vorher vollständig gesunden Bestand von Hunden eingeschleppt.

Ein allseitig durch hohe Bretterwände abgeschlossener Raum diente Ende April 1904 13 Airedaleterriern und einem Irishterrier zum Aufenthalte. Sämtliche Airedales in den verschiedensten Altersstufen waren vom Verfasser gezüchtet und seit ihren ersten Lebenstagen beobachtet worden. Keiner derselben war jemals krank gewesen. Der Irishterrier war Mitte März aus England importiert worden, hatte kurze Zeit nach seiner Ankunft Husten und schleimige Absonderungen aus der Nase gezeigt, doch war trotz ständigen Zusammenwohnens kein anderer Hund erkrankt. Wir meinen, dafs damals ein einfacher Katarrh infolge der Überfahrt und noch nicht erfolgter Akklimatisierung vorlag.

Dem Alter nach verteilten sich die Hunde auf eine ungefähr 4 Jahre alte Hündin, zwei Wurfgeschwister je 1 Jahr 3 Monate alt, fünf Wurfgeschwister im Alter von 7 Monaten (Fall I, IV, VI, VIII und XI), sowie fünf Wurfgeschwister im Alter von 5 Wochen (Fall II, III, V, IX und X).

Am 27. April wurden der Irishterrier sowie die beiden Airedaleterrierhündinnen Mifs (1 Jahr 3 Monate alt) und Sally (Fall I, Tabelle II), 7 Monate alt, zu der am 30. April und 1. Mai in München abgehaltenen Ausstellung eingesandt. Am 2. Mai gingen die Hunde, jeder in seinem Behälter, bei bestem Wohlbefinden von München direkt nach Berlin, wo sie am 7. und 8. Mai ausgestellt waren. Von der Berliner Ausstellung trafen die drei Hunde am 11. Mai wieder in Innsbruck ein; der Irishterrier und

die ältere Hündin Mifs vollkommen gesund, während Sally abgemagert aussah und etwas hustete. Dieselbe erholte sich bei guter Frefslust sehr rasch, der Husten liefs nach 3 Tagen vollständig nach, das Tier war sehr munter, so dafs kein Grund vorlag, Sally, die mit einigen Stallgenossen zu der am 22. und 23. Mai in Wien stattfindenden Ausstellung reisen sollte, zu Hause zu lassen. Am 19. Mai wurden nun der Irishterrier und die Airedalehündin Mifs in je einem Behälter allein, Sally und deren Bruder Jimmy (Fall IV, Tabelle V) in einem gemeinsamen Behälter nach Wien abgeschickt.*) In Wien am 24. Mai zurück aufgegeben, gelangten die Tiere am 26. Mai gegen Mittag erst in meine Hände. Es waren diesmal die (immer gesund gebliebene) Hündin Mifs mit Jimmy (Fall IV) in einem Behälter verpackt, während Sally (Fall I) und der Irishterrier in je einem Korbe sich allein befanden. Sally war in desolatem Zustande. Die Hündin zeigte, aus dem Korb genommen, schwankenden Gang, grofse Schwäche in der Hinterhand und hatte in Intervallen von ca. 10 Minuten Krampfanfälle tonisch-klonischer Natur, bei denen sie sich zusammenkauerte und insbesondere heftige Zuckungen der Gesichtsmuskeln aufwies, die sich in Zähnefletschen und Klappern der Kiefer äufserten. Auch bestand intensiver Speichelflufs.

Die Hündin wurde sofort beim Wasenmeister isoliert und ging unter an Intensität und Häufigkeit zunehmenden Krämpfen am Abend des nächsten Tages ein (Fall I, Tabelle II).

Die anderen drei Hunde waren anscheinend gesund in den Zwinger zurückgebracht worden, doch soll Jimmy (Fall IV) auf dem Heimwege einige Male gehustet und am nächsten Tage verminderte Frefslust gezeigt haben. Das Husten führte der Wärter auf Drosseln des Zughalsbandes zurück und legte ihm deshalb keine Bedeutung bei.

Als ich am 30. Mai, also nach drei Tagen, im Zwinger Nachschau hielt, zeigten mit Ausnahme der alten Hündin und der

*) Die Hunde waren in München, Berlin und Wien in sog. Kollektionsräumen untergebracht, die ihnen freie Bewegung und natürlich auch Kontakt gestatten.

zwei im Alter von 15 Monaten stehenden Hunde alle mehr oder weniger ausgeprägte Krankheitssymptome wie serösen Ausflufs aus der Nase, leichten Husten, Trübung der Kornea; es konnte kein Zweifel mehr bestehen, dafs sämtliche jungen Hunde an der katarrhalischen Form der Staupe erkrankt waren.

Es wäre nun wohl angezeigt gewesen, die noch gesunden älteren Hunde zu isolieren und so einer möglichen Erkrankung derselben vorzubeugen. Da nun aber einerseits gerade die wertvollsten Tiere bereits erkrankt waren, anderseits uns die Frage, ob die bis jetzt gesund gebliebenen älteren Tiere sich auch fernerhin der Infektion gegenüber resistent verhalten würden, interessierte, so beliefsen wir dieselben in Kontakt mit den erkrankten Genossen. In der Tat blieb die vierjährige Hündin und die beiden im Alter von 15 Monaten stehenden Wurfgeschwister trotz des steten Beisammenseins mit den Patienten vollkommen gesund. Der einjährige Irishterrier zeigte Husten und starken eitrigen Ausflufs aus der Nase, so dafs er wohl als staupekrank angesehen werden mufste, doch war der Verlauf seiner Erkrankung ein durchaus gutartiger; er verlor niemals die Frefslust und war nach ungefähr 14 Tagen völlig hergestellt.

Anders jedoch die jungen Airedales. In kurzen Zwischenräumen gingen trotz sorgfältigster Wartung sechs der erkrankten Hunde ein, denen in etwas längeren Intervallen noch drei andere nachfolgten. Von zehn erkrankten Hunden kam nur ein einziger mit dem Leben davon.

Wir geben im folgenden die Protokolle der einzelnen Fälle sowie mikroskopische und kulturelle Befunde wieder.

Fall I, Protokoll Nr. 212.

Airedalehündin »Sally«, gew. am 2. Oktober 1903.

Vorgeschichte oben geschildert. Exitus am 27. Mai, 8 Uhr 45 Min. p. m. Über Nacht in kühlem Raum aufbewahrt Sektion am 28. Mai, 4 Uhr p. m.

Augen tief in den Höhlen liegend, Schaum vor dem Maule, Kadaver sehr abgemagert, doch Fettpolster noch reichlich vorhanden. Die Schleim-

haut des Maules blafs, ohne Ulcera. In der Trachea viel glasiger Schaum. In der Pleurahöhle seröser, nicht hämorrhagischer Ergufs. Lungen normal.

Am Herzen äufserlich nichts Abnormes. Im Perikard reichlich gelbes Serum.

Die Leber grofs und brüchig.

Die Milz mittelgrofs und zähe.

Die Nieren mäfsig blutreich, normal.

Der Magen leer, nur wenig Schleim enthaltend, ohne Entzündungserscheinungen, ohne Blutungen.

Mikroskopisch wurden untersucht Ausstrichpräparate vom Pleuralexsudate, Perikardialexsudate, von der Oberfläche der Lunge, vom Herzblut, von Leber und Milzsaft, auch von der Oberfläche der Leber wurde ein Klatschpräparat angefertigt. Im Pleuralexsudat wurden einige wenige Stäbchen beobachtet, welche meist in Verbänden zu zweien auftraten, von einer deutlichen Kapsel umgeben waren und sehr an Bac. Proteus erinnerten. Im Perikardialexsudat konnte trotz langen Suchens nur ein einziges solches Stäbchen nachgewiesen werden, den gleichen Erfolg hatte unser Nachsuchen im Ausstrichpräparate von der Milz. In allen anderen Präparaten war von Mikroorganismen nichts zu sehen.

Kulturen (schräger Agar) wurden angelegt vom Pleuralexsudat, Perikardialexsudat, von der Oberfläche der Lunge, vom Herzblut, von der Leber, vom Milzsafte.

Am nächsten Tage waren alle Röhrchen mit Ausnahme derjenigen, welche mit Perikardialexsudat und Exsudat von der Oberfläche der Lunge beimpft worden waren, bewachsen, die Kulturen zeigten jedoch zu unserem Erstaunen keineswegs die Bakterien, welche wir im Ausstrichpräparate gesehen hatten, sondern durchwegs und rein ovale kleine Kurzstäbchen mit deutlicher Polfärbung, Formen, wie sie dem Erreger der Hühnercholera, also den Bakterien der hämorrhagischen Septikämie eigentümlich sind. Das vom Perikardialexsudat angelegte Agarröhrchen blieb steril, das mit Exsudat von der Oberfläche der Lunge beimpfte zeigte nach weiteren 24 Stunden ebenfalls eine Reinkultur von hühnercholeraähnlichen Bakterien.

Wir benennen in allen weiteren Protokollen dieses ovoide Stäbchen mit »Stäbchen 212«.

Tabelle II.

Fall I, Protokoll Nr. 212.

Airedaleterrierhündin »Sally«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt zwischen 2. und 11. Mai 1904, † am 27. Mai.

	Pleural-exsudat	Peri-kardial-exsudat	Ober-fläche der Lunge	Herzblut	Ober-fläche d. Leber	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrich-präparate	Einige grofse Stäbchen mit Kapseln	Äufserst spärliche grofse Stäbchen	0	0	0	0	Äufserst spärliche grofse Stäbchen
Kultur	Kleines ovales Kurz-stäbchen (später als Stäbchen 212 geführt)	steril	Kleines ovales Kurzstäb-chen	Kleines ovales Kurzstäb-chen	—	Kleines ovales Kurzstäb-chen	Kleines ovales Kurzstäb-chen

Fall II, Protokoll Nr. 215.

Airedalehündin »Mifs Kate«, gew. am 24. März 1904.

Am 29. Mai munter und gesund. Frifst gut.

Am 30. Mai schwer krank. Verweigert jede Nahrung. Erbricht. Schwäche in der Hinterhand, taumelnder Gang. Grofser Durst.

Am 31. Mai früh fast bewufstlos. Exitus 10 Uhr 50 Min.

Sektion 40 Min. später.

Am Respirations- und Digestionstraktus keine pathologischen Veränderungen. Keine serösen Ergüsse.

Herzblut flüssig, dunkel, teerig.

Leber sehr grofs, blutreich, sehr brüchig.

Milz mittelgrofs, licht mit einzelnen dunkelroten Flecken, zäh.

Mikroskopisch fanden sich im Herzblute einzelne spärliche kurze Stäbchen, sonst nirgendwo Bakterien.

Kulturen wurden angelegt vom Herzblut (Agar und Serum), von der Leber, vom Milzsaft und aus der Galle.

Am nächsten Tage zeigte uns nur eine Kultur (Herzblut auf Agar) Wachstum und zwar ein Stäbchen mit runden Polen von ca. 1—2 μ Länge und mindestens 0,5 μ Dicke, ein Befund also, der sich mit dem in Fall I kulturell erhobenen nicht gut identifizieren liefs.

Behufs Erprobung im Tierexperiment wurde diese am 31. Mai aus dem Tier direkt angelegte Kultur 0 am 1. Juni überimpft (0_1), und von dieser am 2. Juni eine weitere Abimpfung (0_2) vorgenommen. Am 4. Juni erhält nun ein Hase eine Öse 48stündiger Agarkultur 0_2 in eine Ohrvene injiziert. Bei der mikroskopischen Kontrolle der Kultur erweist sich dieselbe aus den oben beschriebenen grofsen Stäbchen bestehend. Am 6. Tage nach der Infektion geht das Kaninchen zugrunde.

Bei der Sektion findet sich blutig seröses Exsudat in der Bauchhöhle und im Herzbeutel. Leber und Milz sind geschwellt und brüchig. Im Herzblut konnten wir mikroskopisch keine Mikroorganismen nachweisen, doch fanden sich im Leber- und Milzsaft zahlreiche Bakterien wie Stäbchen 212. Die Kultur ergab uns aus Bauchexsudat, Herzblut, Leber und Milz in Reinkultur einen Bazillus, der dem Stäbchen 212 identisch war, keineswegs aber die eingeimpften grofsen Formen.

Nach dem Ausfall dieses Tierexperimentes lag es wohl nahe anzunehmen, dafs in Fall II die eigentlichen Erreger durch Vergesellschaftung mit einem saprophytischen Bakterium, eben den erwähnten grofsen Stäbchen, in der Kultur durch Beeinflussung ihres Konkurrenten nicht genügend zur Entwicklung kommen konnten, aber einem Versuchstiere eingeimpft, ihre pathogene Wirkung sofort, wenn auch nur in geringster Menge eingebracht, geltend machten.

Diese unsere Überzeugung wurde bestätigt, als wir schon in vierter Generation (O_3) der Fortzüchtung aus der Originalkultur O nur mehr wenige grofse Stäbchen, aber in überwiegender Zahl Stäbchen wie 212 wachsen sahen. Es war nunmehr ein Leichtes, durch Plattengiefsen dieselben Bakterien reinzuzüchten, wie wir sie schon bei Fall I gefunden hatten.

Dieses Ergebnis scheint uns recht klar darauf hinzuweisen, wie leicht es möglich ist, dafs infolge von Mischinfektionen oder Auftreten von Saprophyten der eigentliche Erreger der Hundestaupe verdeckt werden kann.

Tabelle III.

Fall II, Protokoll Nr. 215.

Airedaleterrierhündin »Mifs Kate«, gew. am 24. März 1904, erkrankt am 30. Mai, † am 31. Mai.

	Herzblut	Leber	Milz	Galle
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparate	Wenige kleine ovale Kurzstäbchen mit Polfärbung	0	0	0
Kultur	Agar: Nach 24 Std. grofse plumpe Stäbchen, erst nach dem dritten Überimpfen treten neben diesen auch die ovalen Stäbchen wie Stäbchen 212 auf. Serum: Steril.	steril	steril	steril

Fall III, Protokoll Nr. 227.

Airedaleterrierrüde »Tipsy«, gew. am 24. März 1904.

Am 30. Mai seröser Ausflufs aus der Nase. Husten.

Da Nahrung nicht genommen wird, erhält der Hund dreimal täglich je zwei rohe Eier, mit Milch oder Suppe verrührt, eingegossen. Auch die Hunde Fall IV, V, VIII und IX müssen künstlich ernährt werden und erhalten aufserdem wie auch Tipsy »Staupeantigonemine« als Heilmittel verabreicht. Nach einigen Tagen wechselnden Befindens tritt am 3. Juni eine Verschlimmerung des Zustandes ein, der Hund liegt im Stall, rasselt beim Atmen (Pneumonie?) und stöhnt schwer.

In der Nacht vom 4. auf den 5. Juni zwischen 12 Uhr 30 Min. und 4 Uhr erfolgt der Exitus.

Sektion am 5. Juni Vormittag 11 Uhr.

Linke Lunge: Der Oberlappen zu dreiviertel, der Mittellappen vollständig pneumonisch infiltriert im Stadium der Eiterung, im Unterlappen einige gröfsere disseminierte Herde.

Rechte Lunge: Der Oberlappen zur Hälfte, der Mittel- und Unterlappen gänzlich pneumonisch infiltriert, in stadio suppurationis.

Die serösen Höhlen frei von Exsudaten.

Die Leber stark steatotisch, nicht sehr blutreich.

Die Milz zäh, derb.

Am Digestionstraktus nichts Abnormes.

Mikroskopisch in dem eitrigen Lungenparenchym zahlreiche polgefärbte ovale Stäbchen vom Typus des Stäbchens 212 nachzuweisen, besonders häufig zu zweien angeordnet und mit Kapseln umgeben, so dafs man bei flüchtiger Beobachtung an das Bild des Diplokokkus Fränkel-Weichselbaum gemahnt wird. Im Herzblut, Leber und Milz sind Bakterien nicht nachweisbar.

Die Kultur ergibt aus der Lunge und Herzblut das typische Stäbchen 212, Kulturen aus Leber und Milz bleiben steril.

Tabelle IV.

Fall III, Protokoll Nr. 227.

Airedaleterrierrüde »Tipsy«, gew. am 24. März 1904, erkrankt am 30. Mai, † am 5. Juni 1904.

	Oberfläche der Lunge	Pneumonischer Herd in der rechten Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparate	Zahlreiche Stäbchen 212	Zahlreiche Stäbchen 212, meist zu zweien nebeneinanderliegend	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212	Stäbchen 212	I. Strich: Steril II. Strich: Stäbch. 212	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall IV, Protokoll Nr. 231.

Airedaleterrierrüde ›Jimmy‹, gew. am 2. Oktober 1903

Der Hund war mit ›Sally‹ (Fall I, Tabelle II) gesund am 19. Mai in einem gemeinsamen Behälter zur Wiener Ausstellung gesandt worden, daselbst im Kollektionsraum in regem Kontakt mit den anderen Hunden gewesen und am 26. Mai wieder eingelangt.

Leichter Husten. Scheint am 27., 28. und 29. Mai krank, frifst aber mit Appetit, geht nicht gerne von seinem Lager.

Am 30. Mai stärkerer Husten, seröser Ausflufs aus der Näse, Schwäche in der Hinterhand, keine Frefslust. Die Diagnose Staupe ist aufser Zweifel. Künstliche Ernährung und Staupeantigourminetherapie.

In der Folge nimmt der Husten an Intensität zu, der Ausflufs aus der Nase mit der Zeit eitrig. Wechselndes Befinden. Ab und zu Muskelzittern und leichte tonisch-klonische Krämpfe.

Am 7. Juni abends starke anfallsweise Krämpfe, die sich oft wiederholen.

Am 8. Juni Früh zahlreiche Anfälle. Exitus zwischen 9 Uhr 45 Min. und 11 Uhr vormittags.

Sektion 3 Uhr 15 Min. nachmittags.

In beiden Lungen gröfsere und kleinere pneumonische Herde in stadio suppurationis. Kein Exsudat im Herzbeutel oder Bauchraum.

Herzblut flüssig, teerig.

Leber reich brüchig.

Milz zähe, blafs.

Keinerlei Erscheinungen am Digestionstraktus.

Mikroskopisch sehr wenige ovale polgefärbte Stäbchen im Lungenparenchym, keine Bakterien im Herzblut, Leber- oder Milzsaft zu finden.

Das typische Stäbchen 212 läfst sich aus dem Lungenparenchym in Reinkultur züchten, Kulturen aus Herzblut, Leber und Milz bleiben steril.

Tabelle V.

Fall IV, Protokoll Nr. 231.

Airedaleterrierrüde ›Jimmy‹, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt zwischen 19. und 26. Mai, † am 8. Juni.

	Lunge pneumonisch. Herd	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparat	Sehr wenige Stäbchen 212	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212	steril	steril	steril

Fall V, Protokoll Nr. 232.

Airedaleterrierhündin ›Tosca‹, gew. am 24. März 1904.

Seit 29. Mai krank, starker Ausflufs aus der Nase, starke Konjunktivitis, Husten. Kein Erbrechen. Künstliche Ernährung und Behandlung mit Staupeantigourmine. In der Folge wird der Husten stärker.

Am 9. Juni abends Erbrechen.

Das Tier lebt noch am 9. Juni abends 9 Uhr 30 Min., wurde am 10. Juni Früh 5 Uhr tot aufgefunden.

Sektion 10 Uhr vormittags.

Kein Exsudat in der Bauch- und Brusthöhle, noch im Herzbeutel.

In der Trachea weifser glasiger Schaum. Beiderseitige Pleuritis fibrinosa.

Beide Lungen mit gröfseren und kleineren pneumonischen Herden im Stadium der Eiterung durchsetzt. Der linke Mittel- und der rechte Unterlappen gänzlich infiltriert und vereitert.

Die Leber brüchig, fettig degeneriert.

Die Milz zäh, derb.

Mikroskopisch nirgends Bakterien zu finden. Von drei aus den Lungenherden angelegten Kulturen bleiben zwei steril, in der dritten finden wir das Stäbchen 212 in Reinkultur gewachsen. Kulturen von Herzblut, Leber, Milz und Niere blieben steril.

Tabelle VI.

Fall V, Protokoll Nr. 232.

Airedaleterrierhündin »Tosca«, gew. 24. März 1904, erkrankt am 29. Mai, † am 10. Juni 1904.

	Oberfläche der linken Lunge	Oberfläche der rechten Lunge	Linke Lunge pneum. Herd	Herzblut	Leber	Milz	Linke Niere
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparate	0	0	0	0	0	0	0
Kultur	steril	steril	Stäbchen 212	steril (4 Striche)	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)	steril

Fall VI, Protokoll Nr. 233

Airedaleterrierhündin »Sissie«, gew. am 2. Oktober 1903.

Seit dem 29. Mai erkrankt. Typischer Ausflufs aus der Nase, Husten, Schwäche der Hinterhand, taumelnder Gang.

Am 8. Juni abends und 9. Juni Früh treten Krämpfe auf.

Am 9. Juni starkes Rasseln. Das Tier liegt fast bewufstlos im Stall und geht am Abend des 10. Juni ein.

Sektion am 11. Juni vormittags 11 Uhr.

Kein Exsudat in den serösen Höhlen.

In beiden Lungen mehr oder weniger grofse pneumonische Herde im Stadium der Infiltration, nur wenige in stadio suppurationis.

Herzblut teerig.

Leber brüchig.

Milz derb.

Von seiten des Digestionstraktus keinerlei Erscheinungen.

Mikroskopisch in der Lunge grofse Stäbchen, wie wir sie schon einmal in Fall II zu beobachten Gelegenheit hatten. Eine Kultur, welche aus einem pneumonischen Herde stammte, ergab jedoch unser typisches Kurzstäbchen 212 rein. Sämtliche von der Oberfläche der Lunge, aus dem Herzblute, Milz und Lebersafte angelegten Kulturen blieben steril, nur in einem der drei vom Herzblute angelegten Ausstriche wuchs am 3. Tage eine Gattung Clostridienformen, welche sich als nicht pathogen erwies.

Tabelle VII.

Fall VI, Protokoll Nr. 233.

Airedaleterrierhündin »Sissie«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt am 29. Mai, † 10. Juni.

	Oberfläche der rechten Lunge	Lunge pneumon. Herd	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparat	0	Grofse plumpe atypische Stäbch.	0	0	0
Kultur	steril	Typisches Stäbchen 212	In einem Strich Klostridienformen, 2 Striche steril	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall VII, Protokoll Nr. 228.

Bastardhund »Ratz«, ca. 10 Wochen alt.

Der vollständig gesunde junge Hund wird am 4. Juni, zu einer Zeit da unsere Epidemie sich noch auf der Höhe befand (sieben kranke Hunde), in den Zwinger gesperrt und in regem Kontakt mit den kranken Tieren gelassen.

Am 16. Juni Husten.

Am 17. Juni ist der Husten sehr stark, Ausflufs aus der Nase.

Am 18. Juni Zustand etwas besser.

Am 19. Juni typischer Nasenausflufs, rechtes Auge ganz verklebt, Husten geringer.

Nach wechselndem Befinden am 22. Juni 3 Uhr 30 Min. p. m. Exitus.

Sektion 4 Uhr p. m.

Der Oberlappen und Mittellappen der rechten Lunge pneumonisch infiltriert, hie und da gröfsere Eiterherde. Derselbe Befund an dem Oberlappen der linken Lunge. Starke fibrinöse Auflagerungen auf der ganzen rechten Lunge und auf dem Perikard.

Leber sehr brüchig, stark steatotisch.

Milz sehr zäh, pulpa- und blutarm.

Nieren blafs.

Im Magen keine Blutungen, nur etwas galliger Inhalt.

Mikroskopisch fanden wir in den pleuritischen Auflagerungen der rechten Lunge, sowie in einem pneumonischen Herde des Mittellappens der rechten Lunge einzelne polgefärbte ovale Stäbchen vom Typus unseres Stäbchens 212. Im Herzblut, Leber und Milz konnten wir keinerlei Bakterien auffinden.

Kulturen wurden angelegt von den pleuritischen Auflagerungen der rechten Lunge, von dem pneumonischen Herde daselbst, von Herzblut, Leber- und Milzsaft. Am nächsten Tage waren von sieben angelegten Strichen fünf mit Kokken bewachsen, zwei waren steril geblieben, nirgends zeigten sich unsere ovalen Stäbchen. Doch auch hier erwies sich Überimpfen als gutes Mittel, um den pathogenen Mikroorganismus von seinem Begleiter zu trennen, und schon die zweite Kultur zeigte uns in dem aus einem pneumonischen Herd angelegten Striche neben den Kokken zahlreiche Stäbchen 212, welche durch die Platte nunmehr leicht isoliert werden konnten.

Tabelle VIII.

Fall VII, Protokoll Nr. 228.

Bastardhund »Ratz«, ca. 10 Wochen alt, wird am 4. Juni zu den erkrankten Hunden gesperrt; erkrankt am 16. Juni, † am 22. Juni 1904.

	Pleuritische Schwarte der rechten Lunge	Pneumonischer Herd, rechte Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparat	Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	0	0	0
Kultur	Kokken	Kokken, nach einmaliger Überimpfung zeigte sich neben Kokken das Stäbchen 212	I. Strich: Eine Kolonie Kokken II. Strich: Steril III. Strich: Kokken	Kokken (2 Striche	I. Strich: Steril II. Strich 10Kolonien Kokken

Fall VIII, Protokoll Nr. 257.

Airedaleterrierrüde »Jack«, gew. am 2. Oktober 1903.

Am 29. Mai gesund.

Am 30. Mai leichter Husten, etwas seröser Ausflufs aus der Nase.

Leicht krank bis ca. 8. Juni, dann bedeutende Verschlimmerung, starker Husten, typischer eitriger Nasenausflufs, taumelnder Gang, Zittern einzelner Muskelgruppen, Zähneklappern, Zucken einzelner Extremitäten. Starke Konjunktivitis.

Der Zustand bleibt bei der äufserst kräftigen Konstitution des Patienten schwankend bis zum 22. Juni, an welchem Tage mehr pneumonische Symptome in den Vordergrund treten.

Am 23. Juni gegen 9 Uhr abends Exitus.

Sektion am 25. Juni 10 Uhr vormittags.

Die linke Lunge in toto pneumonisch infiltriert, die rechte Lunge zeigt zahlreiche kleinere Herde.

Leber stark brüchig, steatotisch.

Milz ziemlich pulpareich und weicher als sonst.

Der Magen blafs, klein, geschrumpft.

Mikroskopisch nirgends Bakterien nachzuweisen. Kulturell läfst sich das Stäbchen 212 aus einem pneumonischen Herde des rechten Oberlappens rein gewinnen. Alle anderen angelegten Kulturen bleiben steril.

Tabelle IX.

Fall VIII, Protokoll Nr. 257.

Airedaleterrierrüde »Jack«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt am 30 Mai, † am 23. Juni.

	Pneumonischer Herd der rechten Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparate	0	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212 und einige wenige Kolonien Staph. pyog. aureus	steril (3 Striche)	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall IX, Protokoll Nr. 260.

Airedaleterrierhündin »Jessie«, gew. am 24. März 1904.

Am 29. Mai munter und frefslustig.

Am 30. Mai leichter Husten, seröser Ausflufs aus der Nase, keine Nahrungsaufnahme. Künstliche Ernährung und Verabreichen von Staupe-antigourmine.

Wechselndes Befinden. Um den 8. Juni herum scheint eine Besserung Platz zu greifen, die ca. 14 Tage anhält. Der eiterige Nasenausflufs ist fast verschwunden, als am 23. Juni ohne äufsere Veranlassung der Zustand sich verschlimmert, insbesondere der Husten viel stärker wird.

Am 26. Juni Früh 7 Uhr Exitus.

Sektion 5 Uhr p. m.

Das schon oft gesehene Bild. Spitze und unterste Partie des Oberlappens, der ganze Mittellappen der rechten Lunge pneumonisch infiltriert, stellenweise in Suppuration begriffen. Der gleiche Befund am ganzen Oberlappen der linken Lunge.

Im Herzbeutel etwas farbloses Serum.

Leber ziegelrotgelb, brüchig.

Milz auffallend grofs und pulpareich, doch eher blafs.

Nieren normal.

Magen und Darmschleimhaut ohne pathologische Veränderungen.

Mikroskopisch nirgends Bakterien nachzuweisen. Aus Herden der rechten und linken Lunge konnte das Stäbchen 212 in Reinkultur gewonnen werden. Vom Herzblut waren zwei Striche angelegt worden. In einem war nur Staph. pyog. aur. gewachsen, in dem anderen fanden sich nur drei Kolonien vor; zwei gelbliche, welche aus plumpen grofsen Formen bestanden und eine weifsliche Kolonie, welche unser Stäbchen 212 ergab. Kulturen aus Leber und Milzsaft waren steril geblieben.

Tabelle X.

Fall IX, Protokoll Nr. 260.

Airedaleterrierhündin »Jessie«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt am 30. Mai, † am 26. Juni 1904.

	Pneumon. Herd in der rechten Lunge	Pneumon. Herd in der linken Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskop. Befund im Ausstrichpräparate	0	0	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212 (2 Striche)	Stäbchen 212 (2 Striche)	Strich I: Staph. pyog. aur. Strich II: Zwei Kolonien plumpe grofse Bakterien, eine Kolonie Stäbchen 212 Strich III: Steril	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall X, Protokoll Nr. 266.

Airedaleterrierrüde »Lucas«, gew. am 24. März 1904.

Am 30. Mai gesund.

In der Folge Husten, Nasenausflufs. Künstliche Ernährung, Staupeantigourmine. Eine Zeit lang scheint der Hund fast hergestellt, dann tritt eine auffallende Verschlechterung seines Zustandes ein.

Am 3. Juli Symptome von Pneumonie.

Am 6. Juli ca. 10 Uhr vormittags Exitus.

Sektion 5 Uhr p. m.

In der Bauchhöhle wenig blutig seröse Flüssigkeit. Die rechte Lunge mit Ausnahme ganz geringer Randpartien am Oberlappen in toto pneumonisch infiltriert, meist in stadio suppurationis. Der linke Ober- und Mittellappen ebenfalls gänzlich infiltriert, der linke Unterlappen bis auf einen haselnufsgrofsen Bezirk in suppuration.

Leber mäfsig brüchig, eher etwas zäh und trocken.

Milz blafs, zäh und trocken.

Der Magen- und Darmtraktus, sowie die Nieren ohne pathologische Veränderungen.

Mikroskopisch in der Lunge spärliche Stäbchen wie 212, auch Diploformen. Sonst nirgends Bakterien nachweisbar.

Kulturell gewinnen wir nur aus den pneumonischen Herden der Lunge unser typisches Stäbchen; Striche von Herzblut, Leber und Milz bleiben steril.

Tabelle XI.

Fall X, Protokoll Nr. 266.

Airedaleterrierrüde »Lucas«, gew. 24. März 1904, erkrankt am 31. Mai, † am 6. Juli 1904.

	Pneumonischer Herd linke Lunge	Pneumonischer Herd rechte Lunge	Herzblut	Leber	Galle	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparate	Wenige Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	Wenige Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	0	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212 (2 Striche)	Stäbchen 212	steril (3 Striche)	steril (3 Striche)	steril	steril (2 Striche)

Fall XI, Protokoll Nr. 261.

Airedaleterrierhündin »Sitta«, gew. am 2. Oktober 1903.

Am 29. Mai gesund.

Am 30. Mai etwas Husten, seröser Nasenausflufs. Im weiteren Verlaufe entwickelt sich der typische Symptomenkomplex der Staupe, insbesondere treten hier die nervösen Erscheinungen stark in den Vordergrund (Masseterenkrämpfe, Zucken der Beine).

Anfangs Juli starkes nervöses Zittern der Kaumuskeln bei psychischer Erregung. Der Husten verliert sich erst gegen Mitte Juli, die nervösen Symptome nehmen ab und Ende Juli scheint das Tier gesund. Ab und zu treten im Laufe der nächsten Monate noch leichte Zuckungen der Gesichtsmuskulatur auf, zurzeit (November) sind auch diese geschwunden.

Wenn wir nun den Verlauf der eben geschilderten eilf Krankheitsfälle überblicken, so fällt uns vor allem der Umstand auf, dafs von 10 Todesfällen nicht weniger als 8 mit Pneumonie kompliziert waren, ja wir nehmen gar keinen Anstofs, direkt diese Pneumonien für den letalen Ausgang verantwortlich zu machen.

Nur Fall I und II sind offenbar reine Septikämien mit schweren toxischen Erscheinungen gewesen.

Über Fall I haben wir folgende Vorstellung: Die Hündin ist infolge der Berliner vielleicht schon infolge der vorhergehenden Münchener Ausstellung erkrankt. Wir sagen »infolge«, denn nachdem Lignières uns gezeigt hat, dafs in der Nase gesunder Hunde seine Pasteurella gefunden wird, scheint uns die Möglichkeit gegeben, dafs — wenn sie überhaupt der Erreger der Hundestaupe ist — insbesondere jüngere, weniger widerstandsfähige Hunde durch Strapazen und mangelhafte Ernährung, wie sie ja mit jeder Ausstellung unvermeidlich verbunden sind, in einen Zustand »minoris resistentiae« gebracht werden, so dafs der etwa vorhandene Erreger sich leicht schädigend bemerkbar machen kann. Dafs dann solche erkrankte Hunde mit ihren virulent gewordenen Keimen eine gute Infektionsquelle für andere abgeben, liegt auf der Hand. Sei dem nun wie immer, Tatsache ist, dafs Sally aus Berlin am 11. Mai sehr abgemagert (sie sah »gewachsen« aus) und hustend eintraf.

Die günstigen Lebensbedingungen, unter denen sie nun in den nächsten Tagen (11. bis 19. Mai) zu Hause wieder stand, trugen wohl im Vereine mit der natürlichen Widerstandskraft des immerhin schon über 7 Monate alten Tieres dazu bei, die erfolgte Infektion nicht in allzu schweren Symptomen auftreten zu lassen. Es mag irgendwo im Körper ein Depot von Infektionserregern den Kampf mit dem Organismus geführt haben. Durch die Reise zur Wiener Ausstellung nun, welche bei der üblichen schwerfälligen Manipulation des Bahnbetriebes die Tiere zu 48-stündiger Enthaltsamkeit von Futter und Wasser zwang, durch die Strapazen und Aufregungen der Ausstellung selbst und gewifs nicht zum Geringsten durch den wiederum zwei Tage währenden Rücktransport bei grofser Hitze (Ende Mai) sind Noxen genügend gegeben, um begreiflich erscheinen zu lassen, dafs der nunmehr äufserst geschwächte Organismus von Bakterien geradezu überschwemmt worden war, und dafs die so intensiv sich geltend machende toxische Wirkung rasch zum Tode führte.

In der Tat konnten wir auf dem Wege der Kultur aus Herzblut und Organen, wie wir es bei septikämischen Erkrankungen gewöhnt sind, ein ovoides,

dem Erreger der Hühnercholera aufserordentlich ähnliches Stäbchen gewinnen, das wir in allen anderen sezierten Fällen — oft nicht ohne Mühe — ausnahmslos wieder fanden, und das sich im Tierexperiment auch für den Hund als pathogen erwies.

Auch in Fall II (Tabelle III) war die Infektion eine so überaus heftige, dafs das ohnedies erst 8 Wochen alte Tier schon innerhalb von 30 Stunden in schwerem Koma seiner Krankheit erlag. Während wir mikroskopisch hier im Herzblut dasselbe Stäbchen nachweisen konnten, welches uns bei Fall I die Kultur geliefert hatte, bedurfte es hier erst des kleinen Kunstgriffes zweimaliger Überimpfung, bzw. der Filtration durch ein empfängliches Versuchstier (Kaninchen), um den durch einen Konkurrenten verdeckten spezifischen Mikroorganismus in Reinkultur zu erhalten.

Auffallend aber sowohl in diesen, als auch in den anderen mitgeteilten Fällen ist die Beobachtung, dafs es nur vereinzelt gelingt, schon mikroskopisch im Ausstrichpräparat die für die Staupe wohl ohne Zweifel verantwortlichen Bakterien zur Ansicht zu bringen. So konnten wir beim Hunde nur einmal (Fall II, Tabelle III) unter zehn Fällen im Herzblut das typische Bakterium mikroskopisch nachweisen und es nur viermal daraus durch die Kultur gewinnen. Letzteres war der Fall in den beiden septikämischen Fällen I und II, bei dem immerhin schon im Laufe von 6 Tagen tödlich verlaufenen Fall III und bei Fall IX. In diesem ist es wohl nur glücklicher Zufall gewesen, wenn es uns gelungen ist, aus dem Herzblute unseren Erreger zu züchten, denn das Resultat dreier Agarstriche bestand in einer einzigen Kolonie unseres typischen Stäbchens, das von begleitenden Staphylokokken fast erdrückt war. Wir haben schon oben betont, dafs die bei längerem Verlaufe der Krankheit auftretenden Sekundärinfektionen schuld daran tragen dürften, dafs der eigentliche Erreger der Staupe oft nicht mehr auf unseren Nährsubstraten zur Entwicklung gelangen kann.

In keinem unserer zehn natürlich erkrankten Fälle — mit Ausnahme des septikämischen Falles I — ist es uns gelungen,

das Stäbchen aus der Leber oder Milz zu züchten, wohl aber in den Fällen, wo wir experimentell mit der Reinkultur Hunde getötet hatten.

Ausnahmslos dagegen waren wir in der Lage, dasselbe aus den pneumonischen Herden zu gewinnen. Da aber gerade in der Lunge den Misch- und Sekundärinfektionen alle Wege offen stehen, nimmt es uns sehr wunder, dafs wir nur zweimal aufser dem typischen Stäbchen, welches sich wohl zweifelsohne bei längerem Verlaufe der katarrhalischen Affektion in der Lunge ansiedelt und so die tötlichen Pneumonien verursacht, hier andere Bakterien (Kokken) gefunden haben.

Morphologisches und kulturelles Verhalten des isolierten Kurzstäbchens.

Wir haben bereits darauf hingewiesen, dafs das von uns in sämtlichen Staupefällen, welche wir zu sezieren Gelegenheit hatten, gefundene ovale Kurzstäbchen im mikroskopischen Bilde dem Erreger der Hühnercholera durchaus ähnelt. Wir finden, allerdings meist nur wenige, kleine kurze Stäbchen (0,3-0,5 : 0,75-1,5 μ) mit abgerundeten Enden, die in nicht überfärbten Präparaten deutlich ausgesprochene Polfärbung zeigen. In Ausstrichpräparaten, welche aus pneumonischen Herden angefertigt waren, zeigten sich unsere Bakterien häufig zu zweien angeordnet, mit Kapseln umgeben, sehr an das Bild des Diplokokkus Fränkel-Weichselbaum erinnernd.

Diese unsere Beobachtungen stehen im Widerspruch mit den Angaben von Lignières über seinen Bazillus, wenn wir auch im allgemeinen der Ansicht sind, dafs der von Lignières in Argentinien gefundene und beschriebene Erreger der »Pasteurellose canine« wohl mit unserem europäischen Erreger der Hundestaupe nahe verwandt sein dürfte (vgl. die Kulturmerkmale auf Tabelle I). Das Stäbchen von Lignières soll ja nach dessen Beschreibung, frisch aus dem Hunde gezüchtet, ein langer Bazillus sein, der erst nach der Passage durch das Meerschweinchen seine charakteristische »kokkobazilläre« Form annehme. Eine solche merkwürdige Metamorphose konnten wir niemals beobachten; hatten wir es mit unserem typischen Stäbchen 212 zu tun, dann zeigte

es seine Form sowohl im Ausstrichpräparate als in der Kultur, abgesehen von ganz geringen Gröfsenschwankungen, immer in gleicher Weise; andere mitunter gefundene Formen (zweimal lange Stäbchen) versagten stets im Tierversuch und waren ganz gewifs erst sekundär beteiligt gewesen. Immerhin möglich scheint uns aber, dafs es vielleicht Lignières so ergangen sein könnte wie uns bei Fall II (Sektionsprotokoll), und dafs er erst durch die Tierpassage zu einer Reinkultur gelangt sei.

Morphologisch und kulturell besteht in vielem eine gewisse Kongruenz zwischen unserem Mikroorganismus und den bisher beschriebenen Erregern der hämorrhagischen Septikämie (Hühnercholera), wenn beide auch durch ihr Verhalten auf der Kartoffel, bezüglich der Indolbildung und Milchgerinnung und ganz besonders hinsichtlich der Pathogenität auseinandergehen.

Bezüglich des Wachstums unseres Stäbchens stellt die Temperatur von 37° C das Optimum dar, doch entwickelt sich der Mikroorganismus auch bei 22° C und Temperaturen darunter in typischer Weise.

Sporen werden nicht gebildet. Der Bazillus verhält sich gramnegativ.

Auf dem Agarstrich uncharakteristischer, weifslicher, diffuser, kräftiger, feuchtglänzender Belag, im durchfallenden Licht an den Rändern opalisierend. Gasbildung häufig. Agarstich wie bei der Hühnercholera, Nährboden durch Gasbildung oft zerrissen. In Traubenzuckeragar Gasproduktion ungemein heftig.

In der Agarplatte finden wir nach 24 Stunden hirsekorn- bis linsengrofse gelblichweifse opake glänzende Kolonien, die im durchfallenden Lichte leicht opalisieren. Die Ränder sind meist scharf und glatt, mitunter jedoch auch leicht gekerbt, was besonders bei kleineren Kolonien in Erscheinung tritt. Die Kolonien sind oft granuliert.

Der Gelatinestrich ist nach drei Tagen mit weifser, opaker Kultur bewachsen, die Vegetation hält sich vom Rande des Reagensgläschens fern.

Keine Verflüssigung der Gelatine.

Der Gelatinestich zeigt Nagelkultur.

In der Gelatineplatte beobachtet man nach 3—4 Tagen Wachstum. Die tiefliegenden Kolonien erscheinen rund, bräunlich mit scharfem Rande. Die oberflächlichen sind oft unregelmäfsig polygonal, zart gekörnt, mit deutlichem Vegetationszentrum.

Auf Blutserum gedeiht der Mikroorganismus, doch nicht besser als auf Agar. Wir sahen im Gegensatz zu Lignières Kulturen aus dem Tierkadaver mitunter auf Agar angehen, während sie auf Serum ausblieben.

In Bouillon tritt diffuse Trübung ein, oft auch die Bildung einer starken Kahmhaut.

Auf der Kartoffel ist das Verhalten ein und desselben Stammes (212) verschieden gewesen. Impften wir mit der direkt aus dem Hunde gezüchteten Kultur, so beobachteten wir (am dritten Tage) einen feuchten, schmierigen, weifslichen, von der Oberfläche der Kartoffel sich gut abhebenden Belag ohne Verfärbung der Kartoffel. Dieselbe Kultur, nur einmal durch das Kaninchen gegangen, wuchs mit Bräunung der Kartoffel als gelblichbräunlicher, schmieriger Strich (3.—4. Tag) etwa so, wie wir es bei Bacterium coli zu beobachten gewöhnt sind.

(Der Lignièressche Bazillus wächst auf Kartoffel »pas de culture visible à l'oeil nu«.)

Milch wird nicht koaguliert.

Indol wird nicht gebildet.

Traubenzuckerbouillon wird kräftig vergoren.

Pathogenität.

Unser Mikroorganismus ist für eine grofse Anzahl von Tieren sehr pathogen.

Weifse Mäuse wurden durch subkutane Einverleibung einer Ose 24stündiger Agarkultur innerhalb von 15 Stunden getötet.

Junge weifse Ratten erlagen ebenfalls rasch der subkutanen Impfung, alte Ratten erkrankten zwar, gingen aber nicht zugrunde.

Meerschweinchen erliegen der Impfung innerhalb von 48 Stunden oder nur wenig darüber.

Kaninchen zeigen sich für Impfungen mit Reinkulturen sehr empfänglich und gehen stets zugrunde, doch nicht so rasch wie bei Infektionen mit Hühnercholera. Öfters, besonders dann, wenn der Verlauf sich mehrere Tage hinzieht, finden wir an der Infektionsstelle ein sulziges, mitunter schwartiges Infiltrat, welches manchmal eine grofse Ausdehnung einnimmt.

Hühner gingen nach 48 Stunden,

Tauben innerhalb von 16—18 Stunden zugrunde.

Naturgemäfs waren die Versuche an Hunden von dem gröfsten Interesse und mögen hier einige unserer Protokolle wiedergegeben sein. Zur Zeit, als wir unsere ersten Reinkulturen aus Fall 1 gewonnen hatten, stand uns nur ein gewifs schon über ein Jahr alter Hund als Versuchstier zur Verfügung, den wir nur ungern in Verwendung nahmen, nachdem ja die allgemeine und unsere persönliche Erfahrung darauf hinwies, dafs mit steigendem Alter die Empfänglichkeit für das Staupevirus abzunehmen pflegt. Dennoch war der Erfolg ein sehr zufriedenstellender.

Pinscherbastard „Bubi", Protokoll Nr. 220,

erhält am 1. Juni 1904 ein halbes Röhrchen 24stündiger Agarkultur (Fall I, Stäbchen 212) intraperitoneal injiziert.

Am 4. Juni Appetitmangel.

Am 5. Juni kränker, frifst nichts mehr.

Am 6. Juni trübe Augen, seröser Ausflufs aus der Nase. In der Folge wechselnder Befund ohne besondere Erscheinungen.

Am 11. Juni starker typischer eiteriger Ausflufs aus der Nase.

Am 12. Juni schlechtes Gehen, Steifigkeit in der Hinterhand.

Am 13. Juni das rechte Auge ganz verklebt, Hinterhand fast gelähmt, wird nachgeschleppt.

Am 14. Juni status idem. (Vgl. Tierexperiment auf Tabelle XII, S. 41.)

Am 15. Juni leichte Besserung der Lähmungserscheinungen.

Am 17. Juni Verschlimmerung.

Am 18. Juni starke Krämpfe, Gesicht ganz verfallen, das Tier kann sich nicht mehr erheben, fast agonal.

Am 19. Juni sehr starker Ausflufs aus der Nase, fast ununterbrochene Krämpfe. Exitus in der Nacht zum 20. Juni.

Sektion am 20. Juni, 11 Uhr vormittags.

Keine Ergüsse in den serösen Höhlen, keinerlei Erscheinungen von seiten der Lungen. Magen- und Darmtraktus normal.

Leber sehr brüchig und blutreich.

Milz pulpareicher als sonst bei Sektionen von Hunden beobachtet.

Mikroskopisch fanden sich in der Leber plumpe grofse Stäbchen, in der Milz äufserst zahlreiche ovale typische Stäbchen 212. Im Herzblut konnten keinerlei Bakterien nachgewiesen werden.

Die Kultur ergab aus Herzblut, Leber und Milz unser Stäbchen 212.

Ein anderer Hund, im Alter von $3^1/_2$ Monaten erhielt ein Röhrchen 24stündiger Agarkultur intraperitoneal. Wir fanden ihn am nächsten Morgen tot. Im Herzblut, Leber und Milz fanden sich überall zahlreiche typische Stäbchen vor, und auch die Kultur ergab aus allen Organen das inokulierte Stäbchen 212.

Da wir nun gesehen hatten, dafs unsere angewandten Kulturmengen unbedingt den Tod nach sich ziehen, gaben wir einem anderen ca. 3—4 Monate alten Hunde nur 3 Ösen Kultur intraperitoneal. Das Tier ist einige Tage sehr krank und magert auffallend ab, erholt sich sodann wieder ziemlich rasch. Vier Wochen nach der ersten Injektion erhält der Hund die als unbedingt tödlich erwiesene Dosis von 1 Röhrchen 24stündiger Agarkultur intraperitoneal. Das Tier reagiert diesmal kaum, es hat offenbar durch die erste Einverleibung einen gewissen Grad von Immunität erlangt.

Derselbe Versuch, an einem anderen Hunde mit einer anderen Staupekultur wiederholt, gab das gleiche Resultat.

Auf subkutane Impfungen reagieren die Hunde nicht in so stürmischer Weise wie auf intraperitoneale. Wir erzielten durch subkutane Injektion bei einem 8 Monate alten Hunde zunächst eine starke Reaktion an der Injektionsstelle. Die Umgebung derselben schwoll mächtig an, war sehr schmerzhaft, nach einigen Tagen entwickelte sich ein etwa apfelgrofser Abszefs, welcher spontan aufbrach. Etwa 4 Wochen nach der Infektion entwickelte sich eine leichte Konjunktivitis beider Augen und eitriger typischer Ausflufs aus der Nase trat auf. Der Hund war sehr herabgekommen und erholte sich nicht mehr. Er ging an zunehmender Kachexie ca. 3 Monate nach seiner Infizierung zugrunde.

Ein anderer Versuch sollte uns Aufklärung bringen, ob zwischen der Pneumonie und unserem Stäbchen wohl ein ätiologischer Zusammenhang mit Recht angenommen werden könne.

Bastardhund. Protokoll Nr. 230.

Zirka 10 Wochen alt, Wurfbruder zu Fall VII (Tabelle VIII).

Am 13. Juni inhaliert der Hund durch 20 Min. lang eine Aufschwemmung unserer Reinkultur mittels des Buchnerschen Zerstäubers.

Am 14. Juni und den folgenden Tagen sehr schläfrig.

Am 17. Juni seröser Ausflufs aus der Nase.

Am 19. Juni typisches Nasensekret, sehr krank.

Am 20. Juni Husten.

In der Folge wechselndes Befinden, das sich anfangs Juli verschlechtert. Das Tier wird am 12. Juli Früh tot aufgefunden.

Sektion. Der Oberlappen der rechten Lunge zur Hälfte pneumonisch infiltriert, teilweise in Suppuration, der Mittellappen zur Gänze vereitert, im Unterlappen einige pneumonische Herde. Ober- und Unterlappen der linken Lunge frei, im Mittellappen zwei gröfsere pneumonische Herde.

Leber brüchig, mäfsig blutreich.

Milz zäh, blafs.

Die linke Niere hydronephrotisch.

An Magen- und Darmtraktus nichts Pathologisches.

Mikroskopisch fanden sich in den pneumonischen Herden zahlreiche Bakterien wie Stäbchen 212, in Herzblut, Leber und Milz konnten keine Bakterien nachgewiesen werden. In der linken Niere fanden sich aufser anderen Bakterien auch polgefärbte ovale Stäbchen.

Die Kultur ergab aus den pneumonischen Herden und aus dem Herzblut das Stäbchen 212, vermischt mit Kokken. Die aus der Milz und Niere angelegten Kulturen zeigten das Stäbchen 212 rein. Die Kulturen aus der Leber blieben steril. Kulturen aus Herzblut auf Serum zeigten das Stäbchen 212 in Reinkultur.

Es erscheint uns also nach dem Ausfall dieses Experimentes nicht mehr zweifelhaft, dafs unser Stäbchen auch bei der Entstehung der Pneumonien in unserer Epidemie seine Rolle gespielt hat.

Durch Fütterungen mit dem in Milch verabreichten Mikroorganismus gelang es uns nicht, bei jungen Hunden Staupe zu erzeugen.

Auch das Einnähen von Organstückchen eines allerdings erst nach langer Krankheit verendeten Tieres (Fall X) konnte bei Hunden keine Erkrankung hervorrufen, doch zeigten sich hier Kaninchen als aufserordentlich wertvolle Indikatoren. Trotzdem wir bei Fall X in Herzblut, Leber, Galle und Milz weder mikroskopisch noch kulturell imstande waren, unseren Mikroorganismus nachzuweisen, gingen zwei Kaninchen, denen ein Stück Leber

bzw. Milz des Tieres unter die Haut eingenäht worden war, das eine nach 3, das andere nach 14 Tagen zugrunde, und konnten wir unser Stäbchen 212 aus den Organen der Kaninchen in Reinkultur gewinnen.

Wir haben diese Eigenschaft des Kaninchens für die Staupeerreger einen trefflichen Kulturboden darzubieten, mit Erfolg benützt, um deren Vorhandensein in den Sekreten der Konjunktiva und der Nase staupekranker Hunde nachzuweisen bzw. deren Virulenz zu prüfen. Nachfolgende Tabelle mag kurz darüber orientieren.

Tabelle XII.

Hund	Nasensekret wurde einem Kaninchen eingeimpft am	Tot nach Tagen	Reinkultur des Stäbchens wurde gewonnen aus
Pinscherbastard Protokoll Nr. 220 s. S. 38	14. Juni	7	Herzblut und Leber
Fall VIII Protokoll Nr. 257	14. Juni	34	Leber
Derselbe	17. Juni	3	Herzblut und Leber
Fall IX Protokoll Nr. 260	14. Juni	34	Herzblut und Leber
Derselbe	17. Juni	4	Herzblut und Leber

Ein auffallender Unterschied macht sich da bei Fall VIII und IX bemerkbar bezüglich des Ausfalles der am 14. bzw. 17. Juni mit Nasensekret vorgenommenen Inokulationen. Die an ersterem Termine geimpften Kaninchen erlagen erst nach 4 Wochen der Infektion, während die am 17. Juni infizierten Tiere schon nach 3 bzw. 4 Tagen zugrunde gingen. Da dürften wohl Quantitäts- und Virulenzunterschiede eine Rolle gespielt haben.

Als wir uns überzeugt hatten, dafs wir imstande seien, mit unseren Reinkulturen Hunde typisch krank zu machen, ja zu töten, untersuchten wir noch die Giftwirkung unserer Kulturen in Filtraten.

Ein Hund von ca. 8—9 Monaten erhielt 20 ccm Berkefeldfiltrat einer dreitägigen Bouillonkultur intraperitoneal. Am nächsten Tage zeigte sich

derselbe schwer krank, so dafs wir überrascht waren, ihn am zweiten Tage noch am Leben zu finden. Nach einem ungefähr 6—7 Tage anhaltenden schweren Somnolenzzustande wird der Hund vollständig gesund.

Empfindlicher zeigte sich das Kaninchen. Ein Hase, der 10 ccm desselben Filtrates erhalten hatte, ging unter starkem Abmagern nach 5 Tagen ein. Krämpfe wurden bei beiden Tieren nicht beobachtet.

Erwähnenswert scheint uns auch eine epidemiologisch hinsichtlich unseres Erregers interessante Tatsache.

Der letzte Todesfall im Zwinger ereignete sich am 6. Juli. Wir hatten in dem Bestreben, noch eine gröfsere Anzahl von Fällen der bakteriologischen Untersuchung zuzuführen, in den letzten Tagen des Juni einige junge Hunde in den Hundestall gebracht, doch erkrankte trotz des innigen Kontaktes mit Fall X keines der Tiere, und auch in der Folge ereignete sich kein Fall von Stallinfektion, alle blieben gesund.

Im Institut befanden sich zu dieser Zeit streng separiert eine Reihe von Hunden, welche zu den verschiedensten Versuchen mit dem Staupevirus benutzt worden und teils nicht erkrankt waren, teils schon einen gewissen Grad von Immunität erworben hatten; auch ein Hund, welcher auf subkutane Einverleibung von Reinkultur mit Abszedierung und Nasenausflufs reagiert hatte, befand sich darunter; derselbe wies jedoch zu jener Zeit keine katarrhalischen Symptome mehr auf. Alle diese Hunde wurden aus äufseren Gründen am 25. Juli in den Zwinger verbracht. Nach einiger Zeit sahen wir von neuem eine Staupeepidemie ausbrechen, welche nun sämtliche Versuchshunde dahinraffte mit Ausnahme derjenigen, welche erst kleine, dann gröfsere Dosen Reinkultur erhalten hatten und so wohl immunisiert worden waren. Es unterliegt nach der ganzen Sachlage keinem Zweifel, dafs die im Laboratorium mit Reinkulturen behandelten Tiere den ihnen anhaftenden Infektionsstoff auf die anderen Hunde übertragen haben.

Die drei in der ersten Epidemie gesund gebliebenen Airedaleterrier erkrankten auch diesmal nicht.

Dafs aufser Hunden auch die Katzen für das Staupekontagium empfänglich sind, ist eine seit langem bekannte Sache.

Wir versuchten also mit unseren Reinkulturen auch bei Katzen ein Resultat zu erzielen.

Eine Katze erhält etwa ein halbes Röhrchen 24 stündiger Agarkultur intraperitoneal. Am nächsten Tage ist das Tier schwer krank und geht nach 6 Tagen zugrunde.

Die Sektion ergab eine fibrinöse Peritonitis, auch Exsudat im Herzbeutel. Mikroskopisch konnten wir in allen Organen die injizierten Stäbchen nachweisen, und die Kultur liefs in allen angelegten Röhrchen unser Stäbchen 212 in Reinkultur erkennen.

Eine zweite Katze, welche mit der eben erwähnten den Käfig geteilt hatte, ohne künstlich infiziert worden zu sein, fing ungefähr eine Woche nach dem Tode ihrer Gefährtin an zu kränkeln, stark abzumagern und ging nach weiteren 8 Tagen ein.

Die Sektion zeigte uns eine schwere Pneumonie der rechten Lunge, wie wir sie so häufig bei unseren Hunden gesehen hatten.

Mikroskopisch und kulturell konnten wir in den pneumonischen Herden, im Herzblut, Leber und Milz die typischen Stäbchen nachweisen, die wir der anderen Katze inokuliert hatten.

Das zweite Tier war also einer reinen Kontaktinfektion erlegen.

Übersicht.

Wir glauben, im vorhergehenden durch den Ausfall unserer Tierexperimente an Hunden und an der Katze wohl zur Genüge klargelegt zu haben, dafs ein ätiologischer Zusammenhang zwischen unseren aus staupekranken Hunden gewonnenen Kulturen und der Erkrankung unserer Versuchstiere bestanden hat. Es ist uns zweifellos gelungen, durch Einverleibung unserer Reinkultur bei Hunden jene Krankheitsformen hervorzurufen, welche man als die katarrhalische und nervöse Form der Staupe bezeichnet, ja wir konnten sogar durch Inhalation unseres Erregers den Ausgang in Pneumonie, wie ihn uns die meisten Fälle unserer Zwingerepidemie dargeboten hatten, künstlich hervorrufen.

Es sei bei dieser Gelegenheit hervorgehoben, dafs wir in keinem unserer zehn genauest beobachteten Fälle imstande waren,

das pustulöse Exanthem, dessen differentialdiagnostischen Wert manche Autoren so ausdrücklich betonen, konstatieren zu können. Die in unserer Epidemie so gut ausgesprochenen Symptome, als seröse, später eitrige Konjunktivitis, erst seröser, später eitriger Nasenausflufs, Husten, Krämpfe tonisch-klonischer Form, Paresen der Nachhand, Pneumonie, sind wohl schon an und für sich so beweisend, dafs wir die Sicherung der Diagnose »katarrhalische und nervöse Form der Staupe« wohl nicht erst von dem Auftreten der »Staupepusteln« abhängig zu machen brauchten. Wir haben im Gegenteil die Überzeugung gewonnen, dafs Staupe durchaus ohne jedes Exanthem verlaufen kann, und möchten hier nochmals die Ansicht mancher Autoren registrieren, dafs das Staupeexanthem lediglich als eine Sekundärinfektion aufzufassen sei, eine Ansicht, die in neuester Zeit Lignières mit Hartnäckigkeit gegenüber Trasbot verficht, der ja überhaupt die Hundestaupe, wie eingangs erwähnt, als eine Pockenkrankheit aufgefafst sehen will.

Von grofsem Interesse ist es für uns, ein Urteil darüber zu gewinnen, in welchem Verhältnis der von Lignières beschriebene Erreger der »Pasteurellose canine« zu unserem Mikroorganismus steht.

Wir haben bei Besprechung der Literatur uns bereits ausführlich mit der Arbeit von Lignières beschäftigt und hervorgehoben, dafs dieser Forscher seinen Kokkobazillus in die selbst konstruierte Gruppe der Pasteurella einreiht und dafs er die Zugehörigkeit zu dieser Gruppe streng umschrieben hat.

Bezüglich der Stellung von unserem Mikroorganismus im Bakteriensystem sind wir der Ansicht, dafs derselbe seinem morphologischen und biologischen Verhalten nach in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie (Hueppe, Kitt) gehöre.

Lignières verlangt unter den Kriterien der Pasteurellose, dafs der »microbe ne donne aucune culture visible sur la pomme de terre«, eine Forderung, die unser Bazillus, wie wir bereits dargetan haben, nicht erfüllen kann. Fehlt nun unserem Stäbchen

für seine absolute Identität mit der »Pasteurellose canine« das gleiche Verhalten auf der Kartoffel, worauf Lignières ein vielleicht doch zu grofses Gewicht zu legen scheint, so ist dies aber nicht der einzige Unterschied, der zwischen unseren Mikroorganismen zu verzeichnen ist. Wir haben schon oben darauf hingewiesen, dafs unser Stäbchen 212 von Anfang an seine typische Form besitzt und behält, während der Erreger des französischen Autors erst nach Tierpassage (!) die »charakteristische Form« annehmen soll, eine Eigenschaft, welche in der Biologie der Bakterien wohl noch niemals verzeichnet wurde.

Auch in der Bouillon verhält sich das Stäbchen 212 anders als die Pasteurellose canine. Während letztere Flocken bildet, die zu Boden sinkend die Bouillon ungetrübt lassen, trüben unsere Stämme ausnahmslos die Nährbouillon und bilden eine Kahmhaut. Bezüglich der Eigenschaft der Pasteurellose canine, mitunter auf Serum noch zu wachsen, wenn Agar versage, können wir gegenteilige Erfahrungen vermelden, ohne jedoch dem Zufall eine mögliche Rolle absprechen zu wollen.

Der Angabe Lignières', er habe frisch aus dem Hund gezüchtete Kulturen für andere Tiere wenig virulent gefunden, müssen wir auf Grund unserer Experimente widersprechen.

Immerhin aber möchten wir mit diesen Differenzen, welche sich vielleicht aus der Verschiedenheit klimatischer Einflüsse und verschiedenen Laboratoriumsbedingungen ableiten lassen, nicht eine absolute Artverschiedenheit konstruieren. Denn in den grofsen Grundzügen sowohl biologischer als kultureller Natur scheinen uns der von Lignières in Argentinien und der von uns hier isolierte Mikroorganismus viele gleiche Eigenschaften zu besitzen (vgl. Tab. I). Ob nun die »Pasteurellose canine« Lignières' und unser »Stäbchen 212« identisch sind, kann wohl nur durch einen unter gleichen Laboratoriumsbedingungen vorgenommenen Vergleich seiner und meiner Reinkulturen entschieden werden.

Immunität.

Im allgemeinen galten durch lange Zeit die Aussichten, eine verläfsliche und andauernde Immunität gegen Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie zu erreichen, nicht für besonders günstige. In neuester Zeit hat jedoch Kitt (57) über recht ermutigende Resultate bei Hühnercholera berichtet, und auch Lignières (29, 55) spricht von befriedigenden Resultaten, die er mit seinen verschiedenen Pasteurellosen zu verzeichnen habe. Phisalix (31, 56) bringt uns eine Zusammenstellung von Impfresultaten, die sehr günstig ausgefallen ist, doch macht ihm Lignières mancherlei Einwände. Es gehört nicht in den Rahmen der heutigen Mitteilungen, auf die Methoden und Resultate der beiden Franzosen näher einzugehen, doch möchten wir unseren Bericht nicht schliefsen, ohne darauf hingewiesen zu haben, dafs die von uns auf Seite 39 erwähnten Hunde zweifellos durch Verabreichung kleiner Kulturmengen gegen die tödliche Dosis widerstandsfähig gemacht worden waren.[1])

1) Wir wollen noch in Kürze erwähnen, dafs wir versucht haben, unser wertvolles Material an Hunden durch therapeutische Eingriffe zu retten. Gerade in der letzten Zeit wufsten kynologische Zeitschriften viel Rühmenswertes über ein neues, angeblich spezifisches Heilmittel gegen Hundestaupe zu berichten. Dieses »Staupeantigourmine« benannte Mittel ist ein »Dauerpräparat« von Bierhefe, und wird von der Aktiengesellschaft für industrielle Bakteriologie »la Zyma« in Montreux (Schweiz) in den Handel gebracht.

Wir behandelten mit diesem Präparat, uns genauest an die demselben beigegebene Gebrauchsanweisung haltend, fünf Hunde (Fall III, IV, V, IX und X), während wir drei Hunde (Fall VI, VII und XI) als Kontrolltiere unbehandelt liefsen. Sämtliche mit Staupeantigourmine behandelten Hunde gingen zugrunde, von den Nichtbehandelten starben zwei, einer (Fall XI) blieb am Leben. Wir können also nach dem Ausfall unserer Versuche dem in Prospekten sehr marktschreierisch angepriesenen Präparate auch nicht die geringste Heilwirkung zusprechen. Nicht unerwähnt bleibe, dafs die Gebrauchsvorschrift die Anwendung anderer Mittel zu gleicher Zeit mit der Antigourmine ausdrücklich verbietet, da hierdurch die Heilkraft derselben beeinträchtigt und die Wirkung vollständig verhindert werde. Der Preis von 5 Mark für 300 g macht, da man grofse Mengen des Präparates zu verabreichen gezwungen ist (z. B. 9 Efslöffel täglich für einen über 8 Wochen alten Hund grofser Rasse), die Behandlung zu einer recht kostspieligen Sache.

Schlufssätze.

1. Wir haben aus einer Reihe von Hunden, welche an katarrhalischer und nervöser Staupe zugrunde gegangen waren, und zwar aus sämtlichen Tieren, ein und dasselbe Kurzstäbchen isoliert und gezüchtet.
2. Dieses Stäbchen gehört biologisch, morphologisch und kulturell in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie (Hueppe, Kitt).
3. Wir waren imstande, durch Inokulationen mit diesem Stäbchen bei Hunden das Krankheitsbild der katarrhalischen und nervösen Staupe hervorzurufen und halten dasselbe für den Erreger der Hundestaupe.
4. Wir schlagen für dieses von uns isolierte und beschriebene Stäbchen den Namen »Bacillus canicidus« vor.

Literatur.

1. Friedberger und Fröhner, Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere, 6. Aufl., 1904.
2. Laosson, Inaug.-Diss., Dorpat, 1882, zit. nach Friedberger und Fröhner.
3. Taplin, Stallmeister oder neuere Rofsarzneikunde, nebst einem Anhang über die Hundeseuche, 1797.
4. Donauer, Vorschläge zur zweckmäfsigen Behandlung kranker Hunde. Marburg und Kassel, 1815.
5. Waldinger, Abhandlung über die gewöhnliche Krankheit der Hunde. Wien und Triest, 1818.
6. v. Gemmeren und Mecke, Anweisung zur Vorbauung und Heilung der gewöhnlichen Krankheiten der Hunde. Münster, 1833.
7. Delabère-Blain (aus d. Französ. v. P. Eckert), Handbuch über die Krankheiten der Hunde, 1834.
8. Karle, Rep. 1844, S. 117.
9. Trastowo, zit. bei Friedberger und Fröhner, s. o.
10. Trasbot, Recueil 1868, 1885, A. d'Alfort, 1879.
11. Venuta, Il med. vet., 1873.

12. Krajewski, Öst. Revue, 1881, Nr. 12, 1882, Nr. 1—7 u. 9, ausführliche Literaturangaben. D. Z. f. T., 1887, S. 324.
13. Dupuis, Recueil, 1887.
14. Konhäuser, Öst. M., 1884, Nr. 8.
15. Semmer, Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin, 1875, S. 204.
16. Rabe, Wiener tierärztliche Wochenschrift, 1883, S. 126.
17. Friedberger, M. J. B. 1877/78, S. 64, 1882/83, S. 52, 1886/87, S. 34, 1888/89, S. 47, 1889/90, S. 140. V. f. Tierärzte, 1881, Heft 5—7 mit Literaturangaben.
18. Mathis Journal de Lyon 1887, zit. nach Friedberger und Fröhner.
19. Marcone und Meloni, Giorn. di A., 1888.
20. Jacquot und Legrain, Recueil, 1890.
21. Galli-Valerio, Clin. vet, 1895, S. 131, und Der Mikroorganismus der Hundestaupe. C. f. B., 1896, Bd. XIX, S. 694.
s. auch la meningo-mielite da cimurro. Il moderno zooiatro, 1893, Nr. 12.
22. Babes und Barsanescu, zit. nach Vecchia (la clinica veterinaria, 1896, p. 122), vgl. auch Jahresbericht von Ellenberger und Schütz, 1896, S. 68.
23. Millais, The Vet., 1896.
24. Jensen, Maanedskr. f. Dyrl., 1895 u. 1896.
25. Taty et Jacquin, Sciences médicales de Lyon, 1898, Nr 44.
Dieselben, Maladie du jeune chien. Lyon médical, 1898, p. 261.
26. Jefs, Berl. t. W., 1899, S. 227. Der Bazillus der Hundestaupe (febris catarrhalis epizootica canum). C. f. B., XXV, 1899, S. 541.
27. Petropawlowsky, Zur pathologischen Anatomie und Bakteriologie der Hundestaupe. Russisches Archiv für Pathologie, klin. Med. u. Bakteriologie, Lief. 6, 1899, ref. Jahresbericht von Ellenberger und Schütz, 1899, S. 84.
28. Mari, ref. im Jahresbericht von Ellenberger und Schütz, 1899.
29. Lignières, Contribution à l'étude et a la classification des Septicémies hémorrhagiques. Laboratoire de l'Association des Hacendados. Buenos Aires, Imprimerie Coni frères, 684 rue Perú, 1900, und Société centrale de médecine vétérinaire, 28 juin 1900.
30. Kitt, Septikämie der Vögel (Hühnercholera) im Handbuch der pathog. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, II. Bd., 1903.
Derselbe, Septicaemia haemorrhagica s-pluriformis. Ebenda.
31. Phisalix, Recherches sur la maladie des chiens. Vaccination du chien contre l'infection expérimentale. Comptes rendus des Séances de l'Académie des Sciences (Paris), 9. Avril 1901.
32. Derselbe, Académie des Sciences und Société de Biologie, 1898.
33. J. Lignières, Sur le microbe de la »Maladie des chiens« Pasteurellose canine. Recueil de médecine vétérinaire«, Nr. 14, 30 Juillet 1903.
und »Sur la vaccination contre la Maladie des chiens« mit Diskussion (Trasbot), ebenda, S. 340 ff.
34. Schantyr, Untersuchungen über die Mikroorganismen der Hundestaupe. Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und vgl. Pathologie, XVIII, 1892.
35. Klett, Die Stuttgarter Hundeseuche. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 1899, Nr. 5—8.

36. Albrecht, Eine Hundeseuche in München. Ebenda, 1899, Nr. 21, 22.
37. Scheibel, Eine eigenartige im Herbst 1898 unter den Hunden Frankfurts beobachtete Krankheit. Berliner tierärztl. Wochenschr., 1899, Nr. 7 u. 8.
38. Richter, »Über die Hundeseuche«. Berliner tierärztl. Wochenschr., 1900, S. 413 u. 424.
39. Mattel, Die Stuttgarter Hundeseuche. Österr. Monatsschrift für Tierheilkunde, 1900, S. 491.
40. Tremmel, Die Stuttgarter Hundekrankheit in Wien. Tierärztliches Centralblatt, 1900, Nr. 28, S. 453.
41. Gundelach, Gastroenteritis haemorrhagica. Archiv für Tierheilkunde, XXVII, 1901, S 308.
42. Zschokke, Die Hundeseuche. Schweizer Archiv für Tierheilkunde. 1900, S. 241.
43. A. Trévisan, La moria dei cani a Francoforte ed a Stoccarda come a Venezia. Il moderno zooiatro, 1899, p. 247.
44. Huet, Brun et Frégis, Discussion à la Société de médecine vétérinaire pratique Bulletin, 1899, p. 76.
45. Guillemard et Chigot, Epizootie sur la race canine. Notes sur la gastro-entérite. Bulletin de la Société de médecine vétérinaire pratique. 1899, p. 101.
46. Ducourneau, Gastro-entérite dysentérique ou hémorrhagique du chien. Société centrale de médecine vétérinaire, 1899, p. 316.
47. Ben Danou, Sur une affection gastro intestinale adynamique et athermique chez le chien et chez le chat. Revue vétérinaire, 1900, p. 293.
48. E. Bimes et E. Sérès, Le Typhus du chien (Pasteurellose canine de Lignières). Toulouse chez Lagarde et Sebille, 1901.
49. Mouquet, Recueil de médecine vétérinaire. 30 Juillet 1903, Nr. 14, Diskussion.
50. M. Butel, Recueil de méd. vét. 30 Juillet 1903, Nr. 14, Diskussion.
51. Ch. Bisanti, De la flore microbienne du chien. Rec. de médecine vét 30 Avril 1903, Nr. 8.
52. Boschetti, Sulle classificatione pathologiche a proposito di Pasteurella e Pasteurellosi. Giorn. della R. Società et Accad. Veterin. Italiana, 1901, Nr. 14.
53. Montfallet, Etudes d'anatomie pathologique et de bactériologie comparée. Santiago de Chile. 1901, p. 44.
54. Kitt, Lehrbuch der patholog. Anatomie der Haustiere, 1900, Bd. I, S. 152.
55. Lignières, La Vaccination contre les Pasteurelloses. Académie des Sciences (Paris), 20. Mai 1902.
56. Phisalix, Maladie des jeunes chiens (Statistique) le Progrès médical Nr. 24, 14. Juni 1902.
57. Kitt, Immunität und Schutzimpfungen bei Geflügelcholera. Handbuch von Kolle und Wassermann, 21.—25. Lief., 1904.

Über die Aufnahme von Bakterien durch den Respirationsapparat.

Von

Prof. M. Ficker.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M Rubner.)

Nachdem es durch Verfütterung leicht wieder zu erkennender saprophytischer Keime sichergestellt war[1]), dafs die Schleimhaut des infantilen Magendarmtraktus nicht als keimdicht angesehen werden kann, mufste sich die Frage aufdrängen, ob denn diese Eigentümlichkeit der Magendarmschleimhaut allein zukomme, oder ob nicht der jugendliche Organismus, entsprechend seiner allgemein gröfseren Infirmität, auch anderwärts zunächst nur mit unzureichenden Schutzmitteln gegenüber dem Eindringen von Mikroorganismen ausgestattet sei. Es lag nahe, hierbei das Augenmerk zunächst auf den Respirationsapparat zu richten.

Der Lösung unserer Frage kann man näher treten, wenn man jungen Versuchstieren entweder kulturell gut charakterisierte, in der Luft der Untersuchungsräume nicht vorhandene, oder aber mikroskopisch gut differenzierbare Bakterien mit der Atemluft verabreicht, um im ersten Falle durch die Kultur, im letzteren Falle durch Schnittfärbungen ihr weiteres Schicksal zu verfolgen.

In den folgenden Versuchen wurde das erstere Verfahren zur Anwendung gebracht.

1) M. Ficker, Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 179.

In einem besonderen, abgelegenen Zimmer wird in einen sonst als Trockensterilisator benutzten doppelwandigen Eisenblechkasten mit den Innenmafsen 30 × 24 × 20 cm das Versuchstier eingesetzt, der Schrank verschlossen und sodann durch die für das Thermometer bestimmte Öffnung das Ausführungsrohr des Buchnerschen Sprayapparates unter Wattedichtung eingeführt. In dem Sprayapparat befindet sich eine wäfsrige Suspension von Prodigiosus oder Rotem Kieler. Der Ballon des Gebläses wird alle 2—5 Minuten aufgeblasen. Nachdem das Tier eine bestimmte Zeit diesem Spraynebel ausgesetzt war, wird es in Sublimattücher gehüllt, durch Stich getötet, abgebalgt, mit Sublimat abgewaschen und auf einem mit Sublimat befeuchteten Sektionsbrett aufgespannt, dieses wird sofort nach dem Sektionszimmer transportiert, wo die Sektion sogleich stattfindet. Das Verspraven und Abbalgen, dann das Überbringen und weiterhin das Sezieren wird von drei verschiedenen Personen ausgeführt, die hierbei untereinander nicht in Berührung kommen durften. Während der Dauer der Sektion waren auf dem Arbeitsplatz sechs Luftplatten exponiert. Es zeigte sich, dafs auf diese Weise eine Verbreitung der verstäubten Keime nach dem Sektionsraum in keinem Falle eintrat. Beim Öffnen des Inhalierkastens war es unvermeidlich, dafs sich die Keime des Kastens der Zimmerluft beimischten, in der Tat wiesen die aufgestellten Luftplatten bis 4 m im Umkreis die verstäubten Keime auf. Einer Verschleppung dieser Keime wurde dadurch in wirksamer Weise vorgebeugt, dafs von den drei am Versuch beteiligten Personen keine die Zimmer der andern betreten durfte, ein Öffnen der Türen erfolgte nur so weit, dafs das Sektionsbrett durchgereicht werden konnte. Im übrigen wurden dieselben technischen Mafsnahmen befolgt, wie sie in dieser Zeitschrift, Bd. 52, S. 179 ff. von mir geschildert sind.

Versuch 1.

Kaninchen, grau, 8 Tage alt, 160 g; verbleibt 1³/₄ Stunden im Inhalierkasten. Zum Versprayen kommt eine Aufschwemmung von 3 Ösen 16 Stunden lang bei 27° gezüchteter Prodigiosusagarkultur in 15 ccm sterilis. Leitungswasser. Von Blut und Organen werden insgesamt 45 Bouillonröhrchen geimpft. Die Überimpfung der angegangenen Röhrchen auf Kartoffel ergibt, dafs alle 4 Röhrchen von Lunge, sowie 2 Röhrchen von Herzblut Prodigiosus enthalten.

Versuch 2.

Kaninchen, grauweifs I, 8 Tage alt, 152 g; verbleibt 2¹/₂ Stunden im Inhalierkasten. Geimpft werden mit Blut und Organen 42 Bouillonröhrchen. Alle 5 Lungenröhrchen, 1 Röhrchen mit Herzblut, 1 mit Leber, enthalten Prodigiosus.

Versuch 3.

Kaninchen, grauweifs II, 5 Tage alt, 102 g; verbleibt 1³/₄ Stunden im Inhalierkasten, gesprayt wird 1 Stunde lang, dann ³/₄ Stunden lang nicht. Zum Verstäuben kommt eine Aufschwemmung von einer 1 Tag alten Agarkultur (27°) vom Roten Kieler in 15 ccm sterilisiertem Leitungswasser. Von 51 geimpften Röhrchen enthalten alle 4 Lungenröhrchen, 5 Blutröhrchen, 2 Leberröhrchen Roten Kieler.

Versuch 4.

Meerschweinchen, schwarzgelb, 3 Tage alt, 68 g; verbleibt 2 Stunden 10 Minuten im Inhalierkasten. Zum Versprayen kommt eine Suspension von 5 Ösen Agarkultur des Roten Kielers (1 Tag, 27°) in ca. 15 ccm sterilis. Leitungswasser. Gesprayt wird 1 Stunde lang, darnach 1 Stunde 10 Minuten lang nicht. Von 41 geimpften Bouillonröhrchen enthalten 4 Röhrchen mit Blut Roten Kieler. Lunge war nicht auf Roten Kieler geprüft.

Versuch 5.

Meerschweinchen, schwarz, 2 Tage alt, 58 g; verbleibt 2 Stunden im Inhalierraum. Prodigiosusspray (5 Ösen Agarkultur, 1 Tag, 25°, in 15 ccm sterilis. Leitungswasser). Von den ca. 40 geimpften Bouillonröhrchen enthalten alle 3 Lungenröhrchen, sowie 3 Blutröhrchen Prodigiosus.

Versuch 6.

Meerschweinchen, gelbschwarz, 2 Tage alt, 63 g; verbleibt $1^3/_4$ Stunden im Inhalierraum, gesprayt wird mit Prodigiosussuspension (5 Ösen Agarkultur, 1 Tag, 27°, in ca. 20 ccm Wasser) 1 Stunde lang, $^3/_4$ Stunden lang nicht. Von 38 geimpften Bouillonröhrchen enthalten beide Röhrchen mit Lunge, 2 mit Blut Prodigiosus.

Um einen Einblick in den Gehalt der Inhalationsluft an verstäubten Keimen zu gewinnen, wurden am Schlufs des 3. und 6. Versuchs je 100 ccm Luft aus dem Isolierraum entnommen, in 50 ccm sterilen Wassers aufgefangen und hiervon Keime gezählt. Es ergab sich, dafs in 100 ccm Luft im 3. Versuch 52000, im 6. Versuch 15200 vorhanden waren.

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, dafs bei allen sechs säugenden Versuchstieren, die einem Spray von Prodigiosus oder Rotem Kieler ausgesetzt waren, ausnahmslos im Blut, in zwei Fällen auch in der Leber die verstäubten Keime enthalten waren. Da der Aufenthalt im Inhalierkasten im Mittel nur 2 Stunden betrug und die Sektion sich sofort anschlofs, so kann hier von einer Vermehrung der inhalierten Keime, von einer Infektion, nicht die Rede sein, zumal wir wissen, dafs der Prodigiosus im Kaninchenkörper (Halban)[1], und speziell in der Kaninchenlunge (Paul)[2]) schon in den ersten Stunden nach der Einführung einen starken Rückgang erfährt.

---

1) Halban, Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch., Wien, CV, Abt. III, Dez. 1896.

2) Paul, L., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 499.

Durch die angeführten Versuche wird jedoch die eingangs gestellte Frage noch nicht einwurfsfrei beantwortet; es braucht doch die Keimaufnahme nun nicht notwendig vom Respirationstraktus aus erfolgt zu sein: die inhalierten Mikroorganismen können an der Kreuzungsstelle des Respirations- und Verdauungstraktus auch den Weg nach dem letzteren einschlagen und könnten somit von der Magendarmschleimhaut aufgenommen sein. Auch wird daran zu denken sein, dafs das im Inhalierraum gehaltene Tier, selbst wenn es so eingestellt wird, dafs es mit der Schnauze weder sein Fell noch die mit Keimen bedeckte Wand berühren kann, doch auch per os Keime aufnehmen wird. In Wirklichkeit war indessen bei den vorliegenden Versuchen diese Aufnahme per os oder die Zahl der hinuntergeschluckten Atmungskeime nicht sehr bedeutend. Bei Kaninchen 1 enthielt der Ösophagus 15 Prodigiosuskeime, beim 2. Kaninchen **3**. Vom Mageninhalt des 1. Kaninchens enthielt 1 Öse im Mittel von 4 Untersuchungen 5 Prodigiosuskeime, beim 2. Kaninchen konnte im Magen überhaupt kein Prodigiosus nachgewiesen werden, dasselbe gilt vom Darm beider Tiere. Aber auch aus folgendem Grunde ist anzunehmen, dafs bei unseren Versuchstieren der Magendarmkanal an der Keimaufnahme unbeteiligt war: im Verlaufe der Verfütterungsversuche bei säugenden Kaninchen konnte ich feststellen, dafs der Nachweis von Prodigiosus im Blut oder in den Organen von ca. 180 g schweren Kaninchen nur nach der Verabreichung von 3 Ösen eintägiger Prodigiosuskultur gelang, bei kleineren Dosen nicht. In den vorliegenden Inhalationsversuchen ist aber ungleich weniger Keimmaterial in den tubus alimentarius gelangt; bei Versuch 3 stellte ich fest, dafs von der Suspension einer Agarkultur (d. s. ca. 10 Ösen) in 15 ccm Wasser während einer Stunde Verstäubens nicht mehr wie 0,3 g verbraucht wurden, es berechnet sich damit $^1/_5$ Öse Kultur als im ganzen verstäubte Keimmenge. Hiervon aber kommen so geringe Mengen auf den Verdauungstraktus, dafs dieser für den Übertritt der Keime nicht in Frage kommen dürfte.

Es könnte aber auch die Nasen- und Pharynxschleimhaut als Eingangspforte angesehen werden. Aus diesem Grunde

wurden in weiteren Versuchen die oberen Partien der Luftwege durch Tracheotomie ausgeschaltet, um die versprayten Keime direkt von der Trachealkanüle aus inhalieren zu lassen.

Versuch 7.

Kaninchen, grau, ca. 10 Tage alt, 145 g, wird tracheotomiert. Das rechtwinklig abzweigende, zur Exspiration bestimmte Stück des T-förmigen Glasrohrs wird mit einem Gummischlauch in Verbindung gebracht, der zum Fenster hinausführt. Das dem Trachealrohr entgegengesetzte Ende wird durch Gummischlauch, der eine Klemme trägt, mit einem den Kautschukstopfen des unteren Auslasses einer 2 Liter-Auslaufflasche durchsetzenden Glasrohr verbunden. Die obere Flaschenöffnung ist mit doppelt durchbohrtem Stopfen versehen, der zwei Glasröhren trägt: die eine ist sehr weit und mit Watte verschlossen, die andere ist mit dem Ausführungsrohr eines Buchnerschen Sprayapparates verbunden. In diesem befindet sich eine Suspension von einer 16—20 Stunden alten, bei 27° gezüchteten Prodigiosus-Agarkultur in ca. 10 ccm Leitungswasser. Bei geschlossen gehaltener Klemme wird die Auslaufflasche durch etwa 20maligen Ballonhub gefüllt, darnach Öffnen der Klemme, so dafs das Tier die prodigiosushaltige Luft einatmet. Nach 10 Minuten wiederum Verschlufs des Zuleitungsschlauches, erneute Füllung der Auslaufflasche mit Spray usf. Auf diese Weise bleibt das Tier ca. 2 Stunden aufgespannt liegen, sodann Stich, Abbalgen usf.

Prodigiosus enthalten 3 Blut- und 2 Leberröhrchen; frei von Prodigiosus sind 9 Röhrchen von Blut, 12 von Leber, 2 von Milz, 6 von Nieren und 2 von Herz.

Versuch 8.

Kaninchen, grauweifs, 160 g, Alter unbekannt. Anordnung wie Versuch 7. Das Tier bleibt im ganzen 1 Stunde 25 Minuten in Sprayatmung, nach einer weiteren $^1/_2$ Stunde Wartens Stich usf. Prodigiosus ist enthalten in 2 Röhrchen von Blut. 6 Röhrchen von Blut, 15 von Leber, 2 von Milz, 4 von Niere sind negativ.

Versuch 9.

Kaninchen, grau, 5 Tage alt, 107 g. Anordnung wie oben, nur wird anstatt Prodigiosus Roter Kieler verstäubt. Die Kanüle bleibt 1 Stunde 10 Minuten lang mit der Auslaufflasche in Verbindung, nach $^3/_4$ Stunden Wartens Stich. 3 Blutröhrchen enthalten Roten Kieler, die übrigen 4 Röhrchen von Blut, 17 von Leber, 2 von Milz, 4 von Niere sind negativ.

Zum Vergleich wurden folgende Inhalationsversuche an tracheotomierten erwachsenen Kaninchen vorgenommen:

Versuch 10.

Kaninchen, gelb I, 2050 g. Als Spray dient eine Suspension von einer eintägigen Prodigiosuskultur in 6 ccm Leitungswasser. Die erneute Füllung der Auslaufflasche mit verstäubten Keimen geschieht alle 5 Minuten. Das

Tier bleibt $1^1/_2$ Stunden in Sprayatmung, nach $^1/_2$ Stunde Wartens Entnahme von 18 ccm Blut aus linker Jugularis, die auf 32 Bouillonröhrchen und Kolben verteilt werden. In keinem Kulturglas geht Prodigiosus an.

Versuch 11.

Kaninchen, schwarz, 1840 g. Als Spray dient eine Suspension von zwei Agarröhrchen (1 Tag, 27°) Rotem Kieler in 5 ccm Leitungswasser. Das Tier bleibt $1^3/_4$ Stunden in Sprayatmung. Nach $^1/_2$ Stunde Wartens Strangulation, Verteilung von Blut nnd Organen auf 52 Bouillon-Röhrchen und 28 Kolben. Zur Prüfung der Verteilung der inhalierten Keime in den Lungen werden vom äufsersten Rand des rechten Unterlappens und von der äufsersten linken Lungenspitze gesondert kleine Stückchen in Röhrchen übertragen. Alle 8 Gläser mit Lunge, darunter auch die beiden von den peripheren Partien geimpften, enthalten Roten Kieler. Die mit Bronchialdrüsen, sowie mit Blnt und Organen geimpften Gläser sind negativ.

Versuch 12.

Kaninchen, gelb II, 1945 g. Als Spray dient eine Aufschwemmung von 2 Agarröhrchen (1 Tag, 27°) Prodigiosus in 7—8 ccm Wasser. Das Tier atmet durch die Kanüle $2^1/_4$ Stunden lang den Spray. Darnach Entblutung von rechter Karotis aus. Blut und Organe werden auf 49 Röhrchen und 31 Kolben verimpft. Von linker Lungenspitze und vom äufsersten Rand des rechten und linken Lungenunterlappens werden besondere Röhrchen mit kleinen Stückchen beschickt. Alle Lungengläser, darunter auch die letztgenannten, enthalten Prodigiosus. Die Gläser von Bronchialdrüsen, Blut und Organen sind negativ.

Es bestätigen diese Versuche einmal die schon von Nenninger[1]) und Paul[2]) festgestellte Tatsache, dafs bei erwachsenen Kaninchen durch den Inhalationsstrom in Tröpfchen suspendierte Bakterien bis in die peripheren Lungengebiete geführt werden. Ferner folgt aus meinen Versuchen, dafs bei erwachsenen Kaninchen die verstäubten Keime, selbst wenn $2^1/_4$ Stunden lang der stark keimhaltige Spray direkt von der Trachea aus inhaliert wird, im Blut oder in Organen nicht nachzuweisen sind. Im Gegensatz dazu sind bei säugenden Kaninchen ausnahmslos die inhalierten Keime im Blute, mitunter auch in Organen wiederzufinden. Die Versuche beweisen nicht, wie hervorgehoben werden mufs, dafs beim erwachsenen Kaninchen reichlich inhalierte Keime nicht doch auch in die Lymph- bzw. Blutbahn

1) Nenninger, O., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 38, S. 94.
2) a. a. O.

weitergeführt werden, denn es könnten die eingeatmeten Keime ja so rasch vermehrungsunfähig gemacht werden, dafs der kulturelle Nachweis nicht gelingt, oder aber es beansprucht dieser Übertritt beim älteren Tiere längere Zeit als die hier innegehaltene: und das ist wohl das Wahrscheinlichere, denn Arnold[1]) sah beim erwachsenen Kaninchen zeitigstens nach 3 Stunden Ultramarinstaub in den perivaskulären und peribronchialen Lymphknoten. Vielleicht ist der jugendliche Organismus zu einer besonders rasch erfolgenden Resorption befähigt. Für die Aufsaugung von Flüssigkeiten ist diese Ansicht in der Physiologie des Kindesalters von K. v. Vierordt[2]) ausgesprochen, es sind als Beleg hierfür allerdings weiter keine experimentellen Erfahrungen als diejenigen Kaupps[3]) genannt, der nach subkutaner Einverleibung von Strychnin bei jungen Kaninchen viel raschere Resorption beobachtete als bei älteren Tieren. Was den Transport von Mikroorganismen in Lymphgefäfsen jugendlicher Individuen betrifft, so fand ich in der Literatur nur von Weigert[4]) die Wahrscheinlichkeit ausgesprochen, dafs die Passage des Tuberkulosevirus in den Lymphbahnen bei Kindern leichter erfolge. Versuche in dieser Richtung wären erwünscht. Von anderen Fragestellungen, die sich aus obigen Resultaten ergeben, sind einige schon in Angriff genommen, viele jedoch liegen aufserhalb des Arbeitsgebietes des Hygienikers. Zunächst wird durch Schnittfärbungen festzustellen sein, wo der Durchtritt der inhalierten Bakterien in den infantilen Luftwegen erfolgt, ob die Alveolarsepten den Keimen besonders günstige Chancen zum Eintritt geben, wie das nach den Untersuchungen Arnolds[5]) über die Staubinhalation oder nach den Beobachtungen W. Müllers[6]) über die Entstehung der Pneumonie, insbesondere der Vaguspneumonie, angenommen werden könnte, oder ob die Alveor-

1) Arnold, J., Staubinhalation, Leipzig, Vogel, 1885, S. 39.

2) Vierordt, K. v., Physiologie des Kindesalters in Gerhardts Handb. d. Kinderkrankheiten, S. 340.

3) Kaupp, Arch. f. physiol. Heilkunde, 1855, S. 145.

4) Weigert, C., Fortschr. d. Medizin, 1883, Bd. 1.

5) a. a. O.

6) Müller, W., Arch. f. klin. Med., 74. Bd., S. 80.

epithelien selbst die Mikroorganismen aufnehmen, oder ob die Beschaffenheit der beim infantilen Organismus sicher zarteren Schleimhaut das Ausschlaggebende ist, hierbei wird an die Tätigkeit der Flimmerepithelzellen und an die namentlich durch F. Müllers[1]) Untersuchungen erwiesene wichtige Wirksamkeit des Oberflächenschleims der Luftwege zu denken sein. Bei der näheren Analyse solcher Fragen steht zu hoffen, dafs wir einen Einblick gewinnen, worin denn der Unterschied im Verhalten des kindlichen und erwachsenen Organismus gegenüber Mikroorganismen begründet ist: denn hier kommen wir mit den gern gebrauchten, aber bei naturwissenschaftlicher Betrachtungsweise recht unbefriedigt lassenden allgemeinen Erklärungen wie: erhöhte Resistenz, geringere Disposition usf. nicht aus. Die experimentelle Forschung wird dabei wohl auch mit der Frage zu rechnen haben, ob denn da, wo eine erhöhte Aufnahmefähigkeit für Mikroorganismen besteht, die Natur nicht auch auf einer andern Seite für besondere Abwehrvorrichtungen gesorgt hat.

Jedenfalls erscheint es nach den mitgeteilten Untersuchungen nicht angängig, dem tubus alimentarius des säugenden Versuchstieres allein die Besonderheit der Bakteriendurchlässigkeit zuzuschreiben, vielmehr ist der infantile Respirationstraktus mit dem gleichen Mangel behaftet. Ja, es ist sicher, dafs ungleich geringere Keimmengen dazu gehören und genügen, um von den Atemwegen aus der Blutbahn des jugendlichen Organismus zugeführt zu werden. Hat man ein solches Paradigma der Aufnahme saprophytischer Mikroorganismen aufgestellt, so ist man versucht und bis zu einem gewissen Grade auch berechtigt, für infektiöse Keime die gleichen Verhältnisse anzunehmen, es müssen diesen wohl sogar noch günstigere Chancen zuerkannt werden; zwar werden in der Wirklichkeit die im Versuch angewendeten Keimmengen nicht inhaliert, aber dafür steht auch den vereinzelten in die Atemwege eindringenden Keimen u. a. das Mittel der Vervielfältigung zu

1) Müller, F., Sitzungsber. d. Ges. f. Naturw. zu Marburg, 1896, S. 53

Gebote, so dafs damit hinsichtlich der Keimzahl dem Versuch nicht nachstehende Bedingungen gegeben sind.

Wer nach dem Konstatieren der Bakteriendurchlässigkeit des infantilen Magendarmtraktus darin eine Stütze für die Anschauung sah, dafs hier die hauptsächlichste Eintrittspforte für Infektionserreger, wie z. B. für Tukerkelbazillen, zu suchen sei, wird diese Ansicht mit Hinblick auf die vorliegenden Resultate, welche die gleiche Empfindlichkeit auch dem Respirationstraktus zuschreiben, modifizieren müssen. Damit scheint die alte Frage, die bis in die jüngste Zeit hinein einen so breiten Raum einnimmt, ob Inhalations- oder Fütterungstuberkulose in den Vordergrund zu stellen sei, wiederum der Lösung nicht nähergebracht zu sein. Aber ist die Frage überhaupt lösbar und ist sie in dieser Formulierung zulässig? Wenn, wie genugsam erwiesen, der Übertritt von Tuberkelbazillen erfolgen kann, ohne dafs an der Durchtrittsstelle Veränderungen gefunden werden, so wird schon aus diesem Grunde ein Zweifel an der Lösbarkeit berechtigt erscheinen; in vielen Fällen fehlt jede Kontrolle. Vor allem aber mufs man einmal aufhören, an der einseitigen Ansicht festzuhalten, dafs die inhalierten Keime immer nur gerade nach der Lunge, und die per os aufgenommenen nur in den Magendarm gelangen. Die Verdauungs- und Atmungswege kreuzen sich, sie anastomosieren, am Ende der Wege können wir gar nicht mehr sagen, aus welcher Richtung vor der Kreuzungsstelle der Keim gekommen ist. Dafs wir inhalierte Keime im Verdauungstraktus wiederfinden, ist längst bekannt und erhellt auch wieder aus den oben mitgeteilten Untersuchungen, und anderseits ist es mir zur Gewifsheit geworden, dafs per os verabreichte Mikroorganismen, viel häufiger als man gemeinhin annimmt, ihren Weg in die tieferen Luftbahnen nehmen. Man findet hierfür schon einige experimentelle Unterlagen in den zitierten Arbeiten von Nenninger und Paul. Ich selbst hatte, zunächst ganz beiläufig, Gelegenheit, eigene Erfahrungen zu sammeln, als ich säugenden Tieren zur Einverleibung bakterienhaltigen Materials die Bakterienaufschwemmung auf die Zunge aufträufelte: geschah dies mit 1 ccm-Pipetten des gewöhn-

lichen Kalibers, so konnten in jedem Falle die verabreichten Keime in so grofsen Quantitäten in den unteren Luftwegen nachgewiesen werden, dafs ein direktes Einlaufen aus der Mundhöhle oder ein »Verschlucken« angenommen werden mufste. Aus diesem Grunde bin ich von der Einträufelung abgekommen und habe diese Versuche als »Fütterungs«versuche überhaupt nicht gelten lassen, weil mir die Frage, ob die im Blut und in den Organen gefundenen Keime vom Magendarmkanal aus übergetreten seien, so nicht einwandsfrei lösbar erschien. Es wurden vielmehr weiterhin die natürlichen Verhältnisse möglichst nachgeahmt, indem die Bakteriensuspension bei säugenden Tieren mit Saugfläschchen zur Verabreichung kam, bei erwachsenen Kaninchen die Keime zwischen Kohlrabischeiben, bei Hunden mit Fleisch vermischt verfüttert wurden. Von den hierher gehörenden Versuchen sollen nur folgende angeführt werden.

Versuch 13.

Kaninchen, weifs, 3 Wochen alt, 375 g; erhält mit Puppensaugflasche 8 ccm einer Suspension einer Würzagarplatte (1 Tag, 27°) von Hefe Nr. 696 in 20 ccm destilliertem Wasser. Das Tier saugt stark und hastig, mehr als es schlucken kann. Wenn kleine Tropfen zwischen Gummihütchen und Lippen sichtbar wurden, wird die Saugflasche abgesetzt, bis das Tier den Überschufs hinuntergeschluckt hat. In 5 Minuten sind die 8 ccm genossen. Nach 1½ Stunden Wartens wird das Tier mit Sublimattüchern bedeckt, stranguliert unter Halten mit Kopf nach unten, auf schrägstehendem, mit Sublimat befeuchtetem Sektionsbrett mit Kopf nach unten aufgespannt, dann in einem entfernten Zimmer seziert. Die im Umkreis des Sektionsplatzes aufgestellten Luftplatten (Würzagar) enthalten keine Kolonie von Hefe Nr. 696. Von der Trachealschleimhaut oberhalb der Bifurkation werden 2 Abstrichösen in Würze übertragen. Vom linken und rechten Unterlappen der Lungen werden an den peripheren Partien kleine Randstücke abgeschnitten und in je ein besonderes Würzröhrchen gegeben, die übrige Lunge wird auf 4 Würzröhrchen verteilt, Blut und Organe auf ca. 50 weitere Röhrchen.

Resultat: Die Röhrchen vom Trachealschleim, sowie sämtliche 6 von den Lungen enthalten Hefe 696 (durch Agglutination mit spezifischem Kaninchenserum identifiziert). In Blut und Organen keine Hefe.

Versuch 14.

Kaninchen, grau, ca. 4 Wochen alt, 510 g; erhält mittels Saugflasche, dessen Gummihütchen mit feinster Öffnung versehen ist, ca. 5 ccm einer Aufschwemmung des Belages eines Würzagarröhrchens (Hefe 696, 1 Tag, 27°) in 10 ccm Wasser Das Tier saugt gut, jedoch erfolgt wegen der Feinheit

der Saugöffnung die Aufnahme langsam, ca. 15 Minuten. Darnach bleibt das Tier 1 Stunde in Ruhe. Tötung, Sektion wie oben.

Resultat: Weder im Abstrich der Luftröhre, noch in den Lungen ist Hefe nachweisbar, Blut und Organe ebenfalls negativ.

Versuch 15.

Kaninchen, grauweifs, von demselben Wurf wie 14, 535 g; erhält von derselben Aufschwemmung und mittels der gleichen Saugflasche wie in Versuch 14 innerhalb von 12 Minuten 5 ccm. Während der darauffolgenden Stunde wird durch zeitweiliges Zuhalten von Nase und Maul mittels Tuches (12—15 mal) tiefe Inspiration eingeleitet. Tötung, Sektion wie oben.

Resultat: Von 3 mit Trachealschleim geimpften Würzagarröhrchen ist 1 positiv, von den 6 Lungenröhrchen sind 2 positiv (die peripheren Stücke negativ). Blut und Organe negativ.

Versuch 16.

Grofses schwarzes Kaninchen, ca. 2 kg; erhält zwischen Kohlrabi eine Agarplatte (1 Tag, 27°) von Prodigiosus, frifst alles in ca. $^1/_4$ Stunde auf, wird während der darauffolgenden $^1/_2$ Stunde im Zimmer herumgejagt. Darnach Tötung, Sektion wie oben.

Resultat: Prodigiosus ist nachweisbar in den 2 Trachealabstrichen. Alle Lungen-, Blut- und Organröhrchen sind negativ, ebenso die Bronchialdrüsen.

Versuch 17.

Kaninchen, gelb, 1670 g; erhält zwischen Kohlrabi eine 15 Stunden alte Agarplatte Roten Kieler, frifst innerhalb von 10 Minuten fast alles, wird in der darauffolgenden Stunde durch Einhüllen des Kopfes in ein Tuch, sowie durch ca. 10 mal auf die Trachea ausgeübten Druck zu tiefer Inspiration veranlafst. Dann Tötung, Sektion wie oben.

Resultat: Die beiden Röhrchen von der Trachealschleimhaut, 2 von der Lunge, 1 vom Rand des linken Unterlappens enthalten Roten Kieler. Alle anderen sind negativ, auch die Bronchialdrüsen.

Es zeigt sich also zunächst, dafs auch bei vorsichtigerer Art der Einverleibung der keimhaltigen Flüssigkeit, nämlich mittels Verwendung von Saugfläschchen, es nicht möglich war, die verabreichten Bakterien von den Atmungswegen fern zu halten, so lange durch die Saugbewegungen eine zu grofse Flüssigkeitsmenge der Mundhöhle übermittelt wurde. Es hat den Anschein, als ob die Selbststeuerung des Kehldeckelverschlusses bei den säugenden Tieren, zumal bei dem plötzlichen Übergang zur künstlichen Ernährung, noch nicht in der nötigen exakten Weise funktioniert, wie ja überhaupt verschiedene reflektorische Vorrichtungen des infantilen Organismus zunächst noch Mängel

aufweisen. Ich möchte betonen, dafs die Verabreichung der Bakteriensuspension in der schonendsten und vorsichtigsten Form erfolgte, und dafs es sich keineswegs um übertrieben grofse Flüssigkeitsmengen handelte. Man braucht aber diese Bakterieninvasion in die Luftwege nicht nur auf ein direktes Herabfliefsen zurückzuführen, sondern es ist sogar wahrscheinlicher, dafs die Keime erst durch die beim »Verschlucken« stofsend und ruckweise erfolgende Aspiration tiefer geführt werden. Erst durch weitgehende Verkleinerung der Ausflufsöffnung des Gummihütchens gelang es, diesen Transport der Keime nach den Luftwegen hintanzuhalten, dafs aber schon die Erzeugung tiefer Inspirationen genügt, ihnen den Eingang in die Luftwege zu verschaffen, beweist Versuch 15. Diese Aufnahme der Keime in die Lungen unter dem Einflusse tiefer Atmung erfolgt nun nicht nur bei Zufuhr von bakterienhaltigen Flüssigkeiten, sondern auch bei Verabreichung von kompakterer Nahrung, wie das aus den Versuchen an erwachsenen Kaninchen hervorgeht. Über die zu gleichen Resultaten führenden Versuche an Hunden soll in einer demnächst erscheinenden Arbeit im Zusammenhange mit anderen Fragen berichtet werden.

Handelt es sich also um Keime, die erfahrungsgemäfs in erster Linie die Lunge als Eintrittspforte benutzen, so wird man die Frage, wie diese denn nach der Lunge gelangen, ohne Rücksicht auf die Vermittelung der Lymph- und Blutbahnen — ein Thema, das noch der weiteren Klärung durch den Pathologen bedarf — folgendermafsen beantworten können:

1. können sie durch Nasen- und Mundatmung aus der Aufsenwelt in trockenem Zustande oder in Tröpfchenform aufgenommen werden und nach den tieferen Luftwegen gelangen,
   a) sofort mit dem gleichen Atemzuge oder
   b) sie können auf der Nasen-, Rachen- oder Mundschleimhaut abgefangen und gelegentlich von der Schleimhautoberfläche aus der Lunge zugeführt werden (tiefe Inspiration, »Verschlucken«, Erbrechen usf.);

2. können sie zunächst durch Kontakt auf die Mund-, Rachen- oder Nasenschleimhaut gelangen (Fingerkontakt, bei Kindern Spielsachen usf., auf Mund- und Rachenschleimhaut mit der Nahrung), um dann denselben Weg wie sub 1 b nach der Lunge einzuschlagen.

An der Hand der Kenntnisse über die biologischen Eigentümlichkeiten der einzelnen Keimarten kann man erst abschätzen, welcher dieser Infektionswege gangbarer ist als der andere.

Für den Tuberkelbazillus wird man, seitdem die Lehre seiner Ubiquität im Luftstaub widerlegt ist, der direkten Einatmung von der Aufsenluft her nicht mehr die ihr früher zugeschriebene souveräne Rolle zuschreiben, die Tröpfcheninfektion kommt nur für die nächste Umgebung der Phthisiker in Frage. Demgegenüber dürfte heute der Aufnahme der Tuberkelbazillen durch Kontakt doch eine gröfsere Bedeutung als ehedem beizumessen sein und die Ansicht, dafs die Tuberkelbazillen ihren Weg häufiger durch den Mund als durch die Nase nehmen, dürfte das Richtige treffen. Ist aber bei überwiegender Aufnahme per os die Lunge die hauptsächlichste Eingangspforte, dann müssen zwischen Mundschleimhaut und Lunge betretenere Wege existieren, als man annimmt. Wenn von manchen Autoren hierbei die Rachen- und Gaumentonsillen in den Vordergrund gestellt werden oder auf andere Verbindungswege der Lymphbahnen — Submaxillar- und Supraklavikulardrüsen — hingewiesen wird, so ist doch nicht zu vergessen, dafs aufser auf diesen Umwegen die auf der Mundschleimhaut befindlichen Keime auch auf direktem Wege, durch tiefe Inspiration, durch »Verschlucken« etc. in die Tiefe der Atmungsorgane gelangen können. Es kann eine nach diesem Modus der Aufnahme von Tuberkelbazillen in den Lungen erfolgende tuberkulöse Infektion in vielen Fällen wohl eine Inhalationstuberkulose genannt werden, obwohl die Keime zunächst durch Kontakt aufgenommen wurden; dann mufs der Begriff »aërogene Infektion«, den man für gewöhnlich nur für Infektion von in der Aufsenluft befindlichen Keimen verwendet, erweitert werden.

Der Hygieniker mufs, glaube ich, auf die Klarstellung dieser Verhältnisse einiges Gewicht legen; denn wenn diejenigen, die später berufen sein sollen, den Kampf gegen die Tuberkulose in der Praxis aufzunehmen, in der Klinik und am Sektionstisch hören, dafs der aërogenen Infektion für die Genese der Tuberkulose die gröfste Bedeutung zukomme, so könnte damit leicht die Kontaktinfektion, deren Verhütung nicht minder wichtig erscheinen mufs, unterschätzt werden.

Man wird zu dieser Einschränkung der dominierenden Bedeutung der Tuberkelbazilleninhalation nicht nur hingeführt, wenn man sich mit Zahl und Arten der Luftkeime näher befafst, sondern auch wenn man die Eigentümlichkeiten anderer von der Lunge aus wirkender Keime sich vergegenwärtigt: ich meine die hauptsächlichen Pneumonieerreger. Sollten wir denn lediglich der beiden Tatsachen wegen: einmal, dafs der Pneumococcus lanceolatus in der Lunge seine Infektionskraft entfaltet, und dann, dafs er, in Blut und in Sputum eingehüllt, das Eintrocknen bis zu 100 Tagen[1]) verträgt, glauben, dafs er in der Luft vorhanden sein müsse, und dafs die Infektion vor allem nach der Inhalation der Pneumokokken aus der Aufsenluft her erfolge? Wie oft sind die Pneumokokken bisher einwandsfrei in der Luft gefunden worden? Dafs der Keim das Austrocknen eine Zeitlang verträgt, wenn man ihn im schützenden Blut oder in dicken Sputumhüllen eintrocknen läfst, berechtigt uns nicht dazu, seine Übertragbarkeit durch die Luft anzunehmen: man müfste denn das Gleiche auch für die Choleravibrionen tun, die unter geeigneter Versuchsanordnung im trockenen Zustande noch eine Lebensfähigkeit nach 120[2]), ja nach 186 Tagen[3]) zeigen, und doch denkt niemand an eine aërogene Cholerainfektion. Vielmehr offenbart der Pneumokokkus, wie kaum ein anderer Keim, bei der Prüfung seiner biologischen Eigenschaften die parasitäre Natur, er ist, wenn man so sagen darf, endemisch in der Nasen-, Mund- und Rachenhöhle vieler Organismen und

1) Germano, E, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 26, S. 66.
2) Guyon, Arch. d. méd. exp. et d'an. Path., 1892, Nr. 1.
3) Berckholtz, Arbtn. a. d. K. Ges.-Amt, Bd. III, S. 166.

besonders beim Menschen. Erst vor kurzem habe ich mich wieder von der Ubiquität von Pneumonieerregern in der menschlichen Mundhöhle überzeugen können, als ich in einem zahnärztlichen Fortbildungskurs Mundspülwasser auf Mäuse verimpfen liefs: von zehn Mundhöhlen enthielten sieben den Pneumokokkus, eine den Bac. Friedländer und eine einen ebenfalls als Septikämieerreger bei der Maus wirkenden, Friedländer-ähnlichen Keim.

Wenn wir also die Aufnahme der Pneumokokken durch den Luftstaub als unwahrscheinlich annehmen müssen[1]) und anderseits sicher wissen, dafs der Keim auf der menschlichen Nasen- und Mundschleimhaut einheimisch ist, so wird man z. B. den nicht zu leugnenden Einflufs der Jahreszeiten und der Witterung auf die entstehenden Pneumonien so zu deuten haben, dafs im Menschen selbst damit günstige Bedingungen für die Keime, deren Träger er ist, geschaffen werden. Es kann denn auch kein Zweifel sein, dafs der Keim von der gewöhnlichen Stätte seines Aufenthaltes aus auf die oben geschilderte Weise häufiger als man annimmt, nach den unteren Luftwegen gelangt, dafür sprechen auch die neueren Untersuchungen an normalen Lungen. Wenn nicht alle Untersucher zu dem gleichen Ergebnisse kommen und manche die normalen Lungen steril fanden, so beweist das doch nichts dagegen, dafs die gesuchten Keime zeitweilig nicht doch hier vorhanden sind, denn dafs gerade den Lungen und dem Bronchialbaum eine bedeutende selbstreinigende Kraft innewohnt, ist, zweifellos erwiesen[3]) und sogar quantitativ festgestellt[4]).

In ähnlicher Weise haben wir auch bei der Entstehung der durch Bac. Friedländer oder Influenzabazillen entstehenden Infektionen nicht in erster Linie an eine Aufnahme durch Luftstaub zu denken, sondern müssen uns für einen Teil der Fälle eine Inhalation von aufsen nur in Tröpfchenform in direkter Nähe des Kranken oder Bazillenträgers vorstellen, für den andern

1) Vgl. auch Neifser, M., Zeitschr. f. Hyg, Bd. 27, S. 191.
2) Gramatschikoff, Arbtn. a. d. path. Inst. Tübingen, Bd. I, S. 450.
3) Snel, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 103
4) Paul, L., a. a. O.

Teil kommt auch hier eine endogene Infektion in Betracht, indem die auf der Nasen oder Mundschleimhaut heimischen oder nach Tröpfcheninhalation oder nach Kontakt vorübergehend angesiedelten Mikroorganismen von hier aus die Lungeninfektion einleiten, entweder auf dem Umweg von Lymph- und Blutbahnen, oder auf aërogenem Wege (starke Inspiration usf.), oder durch direkten Import mit nach folgender Aspiration (»Verschlucken«, Erbrechen).

So drängen wohl auch die Erfahrungen mit unseren häufigsten Pneumonieerregern dazu, den Begriff der aërogenen Infektion deutlicher zu präzisieren und der Frage die weitere Aufmerksamkeit zu widmen, wie denn die mit der Mundschleimhaut in Kontakt kommenden Keime nach der Lunge gelangen. Dafs wir da häufigere Kommunikationen anzunehmen haben, mufs gerade an dem Beispiel des Pneumokokkus einleuchten, weil hier die bei der Tuberkulose in den Vordergrund gedrängte Frage der intestinalen Infektion von vornherein nicht die geringste Wahrscheinlichkeit für sich hat.

Für den beobachtenden Arzt bedarf es nicht der näheren Ausführung, dafs wir auch beim Menschen mit ähnlichen Verhältnissen, wie sie im vorstehenden das Tierexperiment nachzuahmen suchte, zu rechnen haben. Die geschilderten Arten des Keimtransportes nach den Lungen müssen insbesondere auch für Säuglinge und Kinder bedeutungsvoll sein: die Atmung des Kindes ist zunächst wohl immer ungleichmäfsig und unregelmäfsig; auffallend häufig wechseln schon für gewöhnlich, dann aber auch bei äufseren Einflüssen, die die Aufmerksamkeit des Kindes erregen, tiefe und flache Inspirationen. Ganz besonders aber kann man bei und nach dem Schreien forcierte und tiefe Atemzüge beobachten, die sicherlich entweder die beim Schreien losgeschleuderten Mund- und Rachenkeime in die tieferen Luftwege aspirieren, oder die selbst so kräftig sind, um von der Schleimhaut oberflächliche Auflagerungen hinabzureifsen. Ferner sind mit der künstlichen Ernährung Möglichkeiten des Keimimports von dem Mund nach der Lunge genug verknüpft: wie oft kann man beobachten, dafs beim ruhig liegenden Kinde das aus der

Milchflasche ausfließende Quantum nicht mit den regulären Schluckbewegungen fortgeschafft werden kann, daß »Verschlucken« oder Erbrechen eintritt, es ist klar, daß hierbei nicht nur Milch- sondern auch Rachen- und Mundkeime Eingang in die Luftwege finden, zumal ja danach auch wieder tiefe Inspirationen erfolgen. Ganz besonders fällt es auf, mit welcher Wucht die Milch aus der Flasche in die Mundhöhle des trinkenden Kindes dann eingetrieben wird, wenn es in schlecht federndem Kinderwagen über holprige Wege oder schlechtes Pflaster gefahren wird.

Wenn die mitgeteilten Ergebnisse einen Schluß auf die Tuberkuloseentstehung beim Menschen zulassen sollten, so müssen sie geeignet erscheinen, in etwas zu vermitteln zwischen der Ansicht, daß nur die Luft als infizierendes Medium in Frage komme und der andern, daß die Nahrungsinfektion das Ausschlaggebende sei: der Begriff der Luftinfektion muß eine Umwertung erfahren, ferner ist daran zu denken, daß der Modus der Aufnahme durch die Nahrung nur einen Bruchteil der sonstigen Kontaktübertragungen ausmacht, und daß auch für die dem Mund zugeführten Kontaktkeime die Lunge als Eintrittspforte zu gelten hat. Speziell mit Rücksicht auf die Säuglingsinfektion ist nochmals hervorzuheben, daß die größere Bakteriendurchlässigkeit dem Magendarmtraktus nicht allein, sondern auch den Atmungsorganen zukommt. Wenn es noch der Beweise bedurft hätte, daß gerade der infantile Organismus den Infektionserregern eine breitere Angriffsfläche darbietet, so muß die festgestellte Tatsache des geringeren Schutzes des Verdauungs- und Atmungsapparates, die der täglichen ärztlichen Erfahrung eine experimentelle Stütze gibt, dazu auffordern, noch weitergehende Maßnahmen als die bisherigen zur Verhütung von Säuglingsinfektionen zu ergreifen.

Der „Vakuumreiniger", ein Apparat zur staubfreien Reinigung der Wohnräume.

Von

Stabsarzt Dr. **Berghaus,**

Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Bei der grofsen Bedeutung, welche die Luft für die gesamte Tier- und Pflanzenwelt, speziell für die Gesundheit des Menschen hat, mufsten ihre Verunreinigungen, wie sie vorzugsweise durch die verschiedensten gewerblichen Betriebe hervorgerufen werden, bald die Aufmerksamkeit der Hygiene auf sich lenken und diese veranlassen, geeignete Mittel und Wege ausfindig zu machen, die nach Möglichkeit die gesundheitsschädlichen Einflüsse beseitigen oder doch abschwächen. Diese Bestrebungen der Hygiene, dank den Fortschritten auf dem Gebiete der Technik in vielen Fällen erfolgreich, fanden in fast sämtlichen Industriestaaten ihren Ausdruck in gesetzlichen Bestimmungen über den Betrieb und die Einrichtung derartiger gewerblicher Anlagen.

Unter den Verunreinigungen der Luft verdienen vom hygienischen Standpunkte aus die staubförmigen besondere Beachtung. Denn abgesehen von den mechanischen Schädigungen, die sie bei ihrer Einatmung den Atmungsorganen zufügen können und die in Katarrhen sich äufsern, bergen sie in sich eine grofse Menge kleinster Lebewesen, unter denen spezifische Krankheitserreger, wie z. B. Tuberkelbazillen, Diphtheriebazillen, nicht zu

den Seltenheiten gehören. Ein Aufenthalt in einer so verunreinigten Luft mufs den Menschen der Gefahr aussetzen, dafs er Krankheitskeime in sich aufnimmt, die, treffen sie einen empfänglichen Organismus, in diesem ihre pathogenen Wirkungen zum Ausdruck bringen können.

Ein Vorgang, bei dem eine mehr oder minder grofse Staubentwicklung stattfindet, spielt sich fast täglich ab bei der Reinigung von Wohnräumen und den in ihnen befindlichen Ausstattungsgegenständen durch Kehren, Bürsten und Ausklopfen. Ist hierbei die Staubentwicklung auch keineswegs so erheblich, wie in mancherlei Fabrikbetrieben, so kann diese Art der Reinigung gesundheitlich nicht als einwandfrei angesehen und die Gefahren, die in ihr liegen, dürfen nicht unterschätzt werden. Auch der Effekt einer solchen Reinigung ist in vielen Fällen sehr gering. Handelt es sich um geschlossene Räumlichkeiten, so findet bei dem Ausklopfen zwar ein Aufwirbeln des Staubes statt, dieser aber senkt sich mangels genügenden Luftzuges bald wieder auf die umstehenden Möbel. Es tritt also nur eine Umlagerung und keine Beseitigung der Staubteilchen ein. Geschieht die Entstaubung bei kräftiger Lüftung oder im Freien, so ist der Erfolg erheblich besser; die Belästigungen des Arbeiters und der Umgebung durch den Staub sind jedoch nicht beseitigt.

Ein Apparat, der diesen Übelständen abzuhelfen in der Lage sei, wurde anfangs dieses Jahres in Deutschland in den Handel gebracht, nachdem er bereits in England einige Zeit Anwendung gefunden hatte. Auf Veranlassung meines hochverehrten Chefs, des Herrn Geh. Medizinalrats Prof. Dr. Rubner, dem ich an dieser Stelle für das stetige Interesse an den Versuchen meinen Dank ausspreche, befafste ich mich im Laufe des vergangenen Sommers mit der Prüfung des neuen Verfahrens.

Das Prinzip der neuen Reinigungsmethode ist, durch Saugluft, wie sie durch das Vakuum erzeugt wird, die den Gegenständen anhaftenden Staubpartikelchen aufzusaugen und zu sammeln, um sie vernichten zu können; auf die Verwendung des Vakuums nimmt die Bezeichnung »Vakuumreiniger« bzw. »Vacuum Cleaner« Bezug.

Der Apparat (Fig. 1), der bereits von Hoettecke beschrieben wurde[1]), besteht im wesentlichen aus einer Luftpumpe, einem luftdicht verschliefsbaren, kesselartigen Behälter, dem sog. Vakuumraum, in dem sich ein Filter befindet, und einer Schlauchleitung, welche, vom Vakuum ausgehend, zu den zu reinigenden Räumen führt. Das freie Ende der letzteren wird je nach der Art der Gegenstände, die entstaubt werden sollen, mit verschieden geformten metallenen Mundstücken versehen; die antreibende Kraft wird von einem Elektro-Benzin- oder Gasmotor geliefert.

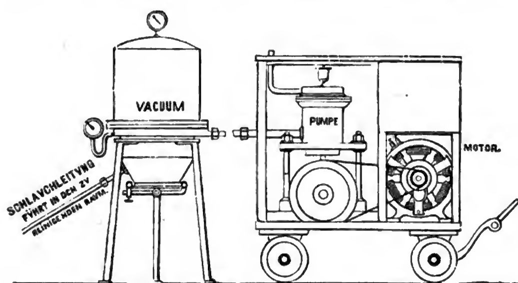


Fig. 1.

Wird die Luftpumpe, die je nach der Gröfse des Apparates ein- oder zweizylindrig ist, in Betrieb gesetzt, so entsteht in dem kesselförmigen Raum eine Luftverdünnung, die zu einer völligen Luftleere sich steigern würde, wenn nicht von aufsen ein Luftzutritt erfolgte. Dies geschieht nun mittels der Schlauchleitung. Je nach dem Grade der im Vakuum vorliegenden Luftverdünnung strömt die Luft mit mehr oder minder grofser Kraft ein, und dementsprechend macht sich an dem freien, mit Mundstück versehenen Ende die Saugwirkung bemerkbar. Bringt man das Mundstück auf einen luftdurchlässigen Gegenstand (Fig. 2), z. B. Teppich, Polstermöbel usw., so müssen, genügende Saugkraft vorausgesetzt, die in, auf und unter dem betreffenden Gewebe

1) Gesundheits-Ingenieur 1904, Nr. 31, S. 502.

liegenden beweglichen Körperchen, deren wesentlicher Bestandteil der Staub ist, angesaugt und durch die Schlauchleitung dem Vakuumraum zugeführt werden; ähnlich verhält es sich bei der Reinigung von festen, luftundurchlässigen Gegenständen, z. B. Bildern, oder Wänden Fufsböden. Die angesaugte Luft wird durch das Filter von dem ihr anhaftenden Staub befreit und



Fig. 2.

tritt gereinigt in die Zylinder der Luftpumpe. Aus letzteren wird sie nach aufsen befördert. Das Filter besteht aus einem Sack dichten und kräftigen Leinwandgewebes. Es wird über ein den oberen Teil des Vakuumraumes im Querschnitt fast völlig ausfüllendes, pilzförmiges Stativ gestülpt und mit der Öffnung nach unten mittels Bandeisen befestigt. Unterhalb der Kuppel des Stativs, im Innern des Filtersackes, ist die Einmündungsstelle

der Saugleitung. Der von dem Filter zurückgehaltene Staub sammelt sich in dem trichterförmig zulaufenden unteren Abschnitt des Vakuums und wird durch eine Öffnung, die mit einer luftdicht verschliefsbaren Klappe versehen ist, nach der jedesmaligen Entstaubung entfernt.

Bei regelrechtem Gang arbeiten die Apparate mit einem Minderdruck von ca. einer halben Atmosphäre (35—40 cm Quecksilber). Bei Verwendung der einzylindrigen Pumpe werden ca. 60,

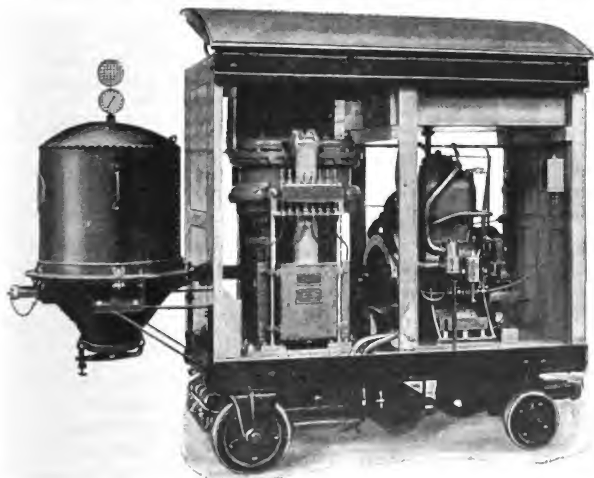


Fig. 3.

der zweizylindrigen die doppelte Anzahl Kubikmeter Luft in einer Minute durch das Filter gesaugt.

Die gesamte Einrichtung kann als transportabler Apparat oder als stationäre Anlage Verwendung finden. Ersterer (Fig. 3) ist auf einem kleinen Wagen angebracht, der jeweils an die Wohnungen, welche einer Reinigung unterzogen werden sollen, gefahren und im Hofe oder Keller aufgestellt wird. Der stationäre

Apparat, dessen Anlage sich nur für gröfsere Gebäulichkeiten, z. B. Theater, Hotels, eignet, findet in der Regel im Kellergeschofs Aufstellung; Anschlüsse nach Art der Hydranten stellen alsdann die Verbindung mit den einzelnen Stockwerken her. Durch Einschalten von Gummischläuchen kann die Saugleitung beliebig verlängert und durch Türen, Fenster und über Treppen in die betreffenden Wohnräume geführt werden. Um zu verhüten, dafs der aufsen auf ihnen lastende Luftdruck bei der im Inneren bestehenden Luftverdünnung sie zusammenprefst und verschliefst, sind die Schläuche mit Draht durchzogen.

Zur Bedienung des Apparats sind im allgemeinen zwei Mann erforderlich, von denen der eine den Motor zu beaufsichtigen, der andere das Mundstück zu dirigieren hat.

Meine Versuche erstreckten sich auf die Prüfung der Leistungsfähigkeit der Apparate. Um auch ein Urteil für eine etwaige Überlegenheit des Verfahrens gegenüber der gewöhnlichen Reinigungsmethode durch Bürsten, Klopfen usw. zu erhalten, stellte ich unter möglichst gleichen Bedingungen Parallelversuche an. Von besonderem hygienischen Interesse mufste es sein, in Erfahrung zu bringen, ob und in welchem Mafse durch den Vakuumapparat neben einer schnelleren und gründlicheren Reinigung die Staubentwicklung beseitigt oder doch vermindert würde. Zu diesem Zweck versuchte ich die Zahl der bei beiden Verfahren in die Luft gewirbelten Bakterien zu bestimmen; ich bediente mich hierzu der von Koch zur Untersuchung der Luft auf Mikroorganismen angegebenen »Absitzmethode«. Wenn auch bekanntlich diese Methode einen genauen Aufschlufs über die Zahl der in einer Luft vorhandenen Keime nicht gibt, so bot sie mir doch bei den beiderseitigen, unter möglichst gleichen, wenn nicht denselben Verhältnissen angestellten Versuchen sehr wohl verwertbare Vergleichspunkte für die Beurteilung. Die von Petri-Ficker angegebene Untersuchungsmethode konnte aus äufseren Gründen nicht angewandt werden.

Die im nachfolgenden angeführten Keimzahlen stellen den Durchschnitt der Kolonien dar, die auf je zwei Gelatineplatten zur Entwicklung kamen, nachdem sie 10 Minuten, falls nicht

eine andere Zeitdauer besonders angegeben ist, der Luft ausgesetzt gewesen waren; die Zählung der Kolonien erfolgte 3 bis 4 Tage später.

1. Versuch.

Ein Perserteppich von 15 qm Gröfse wurde mit 1000 g Staub imprägniert und über Nacht liegen gelassen. Am folgenden Tage wurde er bei geöffnetem Fenster zusammengelegt und behufs Reinigung durch Ausklopfen auf den Hof gebracht. Die Anzahl der Luftkeime war vor dem Zusammenlegen 10, sie stieg während desselben (3 Minuten) auf 173 und war eine Stunde später, während im Freien die Reinigung vorgenommen wurde, wieder auf 15 zurückgegangen. Mit dem Ausklopfen waren zwei Arbeiter 1 Stunde lang beschäftigt, bis kein Staub mehr nachgewiesen werden konnte. Die anfänglich sich entwickelnden Staubwolken waren für die Arbeiter äufserst belästigend. Alsdann wurde der Teppich in den früheren Raum zurückgebracht und einer nachträglichen Vakuumreinigung unterzogen. Luftkeime waren vorhanden: vor, während und nach dieser **50, 36** und **38**. Es wurden nach 35 Minuten **noch 43** g Staub aus dem Teppich entfernt.

2. Versuch.

In denselben Teppich wurden wiederum 1000 g Staub gerieben, alsdann die Entstaubung durch das Vakuum vorgenommen. Anzahl der Luftkeime vor, während und 30 Minuten nach dem Versuch: **12, 39, 18**. Abgesaugt wurden **999** g Staub, die Reinigung erforderte zwei Arbeitskräfte während 75 Minuten.

3. Versuch.

Imprägnieren desselben Teppichs mit 250 g Staub, Reinigen durch Abfegen bei geöffneten Fenstern. Nach 35 Minuten konnten **48** g Staub gesammelt werden, die anschliefsende Reinigung durch das Vakuum entfernte noch **139** g in 50 Minuten.

4. Versuch.

Es wurden 100 g Staub auf einen 4,62 qm grofsen Teppich gebracht. Luftkeime waren vorhanden vor, während und nach der 15 Minuten dauernden Vakuumreinigung **34, 61, 30**. Die Staubmenge betrug **92** g.

5. Versuch.

Einem Treppenläufer von 0,67 : 13,0 m Gröfse, welcher durch Ausklopfen möglichst entstaubt worden war, wurden durch den Vakuumreiniger **nachträglich 18** g Staub entzogen.

6. Versuch.

Ein Hotelzimmer mit einem Sofa, einem Lehnstuhl und einem Teppich von **16** qm Gröfse wurde von einem Arbeiter in 15 Minuten mittels Klopfens und Bürstens gereinigt. Vor und während der Reinigung waren **8** bzw. **3436** Luftkeime vorhanden, die nach 40 Minuten, bei Beginn und während der Vakuumentstaubung sich auf **41** verringerten und unmittelbar nach der letzteren **32** betrugen. Nachträglich entfernte Staubmenge

393 g. Es waren beschäftigt, wie auch bei den beiden folgenden Versuchen, **zwei Arbeiter mit je einer Saugleitung** 30 Minuten.

7. Versuch.

Ein ähnliches Hotelzimmer mit einem Sofa, zwei Lehnstühlen, einem Vorhang und Teppich von 20,7 qm wurde durch den Vakuumreiniger in **50** Minuten von **651** g Staub befreit. Auf den Gelatineplatten kamen **24**, **22** und **27** Keime zur Entwicklung.

8. Versuch.

Aus einem Teppich von 28,8 qm, der sich in einem grofsen Hotelzimmer befand, wurden **in einer Stunde 518** g Staub gesaugt. Es wurden **26** Keime vor, **33** während und **53** nach der Reinigung gezählt.

9. Versuch.

Ein Abteil II. Klasse eines Eisenbahnwagens wurde mittels des Vakuums bei Anwendung einer Saugleitung in 20 Minuten gereinigt. Die Gelatineplatten wiesen vor, während und nach der Entstaubung **6**, **144** und **7** Keime auf.

Bei dem **10. Versuch,** einer Reinigung eines gleichen Abteils durch Klopfen, betrug im Gegensatz hierzu die Anzahl der Keime, die sich innerhalb 2 Minuten während und unmittelbar nach demselben auf den Platten ablagerten, **9688** bzw. **318**.

Gelatineplatten, die während des Ausklopfens in einem Abteil I. Klasse **1** Minute der Luft ausgesetzt gewesen waren, zeigten **771** Keime.

11. Versuch.

Ein Eisenbahnwagen, der zwei Abteile I. Klasse, vier Abteile II. mit doppelten Sitzen und ein Halbabteil mit einfachen Sitzen hatte, wurde mit einer Schlauchleitung des Vakuumreinigers in 2 Stunden entstaubt, indem **971** g Staub entfernt wurden.

Nach den vorstehenden Ergebnissen haben die von mir geprüften Vakuumapparate beachtenswerte Leistungen aufzuweisen. Ihre Saugwirkung blieb nicht auf die oberflächlichen Teile der Teppiche und Polster beschränkt. Sie machte sich auch in den tiefer gelegenen Partien geltend. Der unter den Teppichen, auf dem Fufsboden liegende Schmutz wurde gleichfalls mitgerissen. Auch Körperchen schwerer als Staub, kleine Steinchen, Eisenteilchen wurden absorbiert. Motten, die sich in den Polstern festgenistet hatten, wurden vielfach abgesaugt und fanden sich unterhalb des Filters als zerquetschte Masse vor. Der Umstand, dafs aus Zimmern und Teppichen, die durch Klopfen und Kehren einer gründlichen und anscheinend vollkommenen Reinigung unterzogen waren, noch nachträglich mittels des Vakuumreinigers

erhebliche Mengen Staub entfernt werden konnten, zeigt die praktische Überlegenheit des neuen Verfahrens gegenüber dem alten. Bei sorgfältiger Vornahme der Entstaubung dürfte der Apparat wohl imstande sein, aus Teppichen, Vorhängen und



Fig. 1. Gelatineplatte während einer Zimmerreinigung durch Klopfen, Bürsten usw. 10 Minuten der Luft ausgesetzt.

Läufern den gesamten in ihnen befindlichen Staub zu beseitigen, wie dieses der 2. Versuch zeigt.

Die mit dem Vakuumreiniger behandelten Gegenstände wurden, soweit es sich nach den Versuchen beurteilen liefs, nicht mehr angegriffen als durch das Klopfen und Bürsten. Die Menge der Wollfasern, die gesammelt werden konnten, war bei beiden Verfahren ungefähr dieselbe. Infolge der Saugwirkung richten sich, wie dies besonders bei den Teppichen zu beobachten war, die niedergetretenen Fasern wieder auf, wodurch die betreffenden Gewebe ein vorteilhafteres frisches Aussehen annehmen.

Ein grofser Vorzug dieser neuen Methode besteht darin, dafs sie die Reinigung in den Wohnräumen selbst gestattet ohne grofse Belästigung der Bewohner. Es kommt bei ihr das umständliche, zeitraubende und kostspielige Entfernen und Wieder-



Fig. 5. Gelatineplatte während Zimmerreinigung durch Vakuumreiniger. 20 Minuten der Luft ausgesetzt.

anbringen der Ausstattungsstücke in Fortfall, Unbequemlichkeiten, die vielleicht manche Hausfrau und Hotelbesitzer bewegen, die Reinigung über Gebühr hinauszuschieben.

Zeit und Arbeitskräfte werden bei einer Vakuumreinigung nicht erspart. Eine gründliche Entstaubung erfordert im allgemeinen denselben, öfters jedoch einen gröfseren Aufwand an Zeit und Bedienungsmannschaften, wie meine Versuche zeigten, als das bisher übliche Verfahren.

Abgesehen von den oben erwähnten, mehr auf praktischem Gebiete liegenden Vorzügen verdient der Vakuumreiniger speziell

hygienischerseits besonderes Interesse. Die Schädlichkeiten, die in der Verunreinigung der Luft durch Staub liegen, werden durch ihn nicht bedingt; ein Aufwirbeln des Staubes und mit ihm der Bakterien findet nicht statt. (Vgl. Fig. 4 und 5.) Die geringe Vermehrung der Luftkeime in den Räumen, in denen die Entstaubung vorgenommen wurde, darf dieser nicht zur Last gelegt werden. Sie wird schon durch das Betreten eines Raumes und das Hin- und Herbewegen in demselben hervorgerufen.

Der aus den Möbeln, von den Wänden und Decken abgesaugte Staub kann durch Verbrennen, Desinfektion oder Vergraben unschädlich gemacht werden; der durch Ausklopfen mobilisierte dagegen belästigt nicht nur die Umgebung in weitem Umfange, ein Übelstand, der sich besonders in den Grofsstädten fühlbar macht, sondern er bildet in erster Linie für die Arbeiter eine ständige, nicht zu unterschätzende Gefahr einer Infektion durch Einatmung von Krankheitskeimen.

Von gesundheitlichem Standpunkte betrachtet, bedeuten die Vakuum-Reinigerapparate einen Fortschritt auf dem Gebiete der Wohnungshygiene. Ihrer allgemeinen Einführung stehen zunächst noch die ziemlich erheblichen Kosten entgegen, die nicht nur die Beschaffung, sondern auch die leihweise Benutzung verursachen. In gröfseren Betrieben, wie z. B. bei den Eisenbahnverwaltungen, Theatern und Hotels dürften sie ihrer praktischen Verwendbarkeit wegen bald Eingang finden, zumal da in diesen wohl ohne Ausnahme die zum Antrieb des Apparates erforderlichen Kraftmaschinen vorhanden sind.

Experimentelles über die bakterizide Wirkung des Lichtes auf mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbte Nährböden.

Von

E. Mettler, med. pract.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Vorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.)

Der günstige Einfluſs des Sonnenlichtes auf das Wohlbefinden des Menschen und auf die Lebenstätigkeit tierischer und pflanzlicher Wesen ist seit langer Zeit bekannt. Diese Beobachtung hat in den letzten Jahren Laien und Ärzte zu der Verwendung des Lichts als Heilfaktor bei den verschiedenartigsten Krankheiten veranlaſst. Es wurde neben dem Sonnenlicht das elektrische Licht, neben dem weiſsen Licht die einzelnen Spektralfarben angewendet. Und so haben sich die verschiedenartigsten Lichtheilverfahren entwickelt. Unsere Kenntnisse über die biologischen Wirkungen des Lichtes wurden besonders durch Niels R. Finsen[1]) in sehr hohem Grade erweitert, indem dieser Gelehrte eine wertvolle Behandlungsmethode gegen Hautkrankheiten, speziell gegen Lupus vulgaris, und eine gleich bedeutsame Therapie gegen Pocken aufstellte. Besonders letztere Therapie ist stets ein Gegenstand scharfer Kritik gewesen, und auch heute noch

1) Niels R. Finsen: Behandlung der Pocken im roten Licht. 2. Lief., 1904.

gehen die Ansichten der verschiedenen Autoren über den Wert des Aufenthalts im roten Zimmer sehr auseinander. Ferner schlossen sich therapeutische Versuche mit rotem Licht bei Masern, Scharlach, Ekzem, Erysipel, Kuhpockenimpfung unter rotem Licht an, doch ist die Zahl der Versuche noch zu gering und die Ergebnisse noch zu wenig übereinstimmend, um ein Urteil zu gestatten. Während die ersten therapeutischen Versuche rein empyrisch waren, so hat man in neuerer Zeit auch versucht, die Wirkung des Lichts experimentell festzustellen. Neben der anregenden wurde namentlich die bakterientötende Wirkung wiederholt untersucht. Schon vor Finsens bahnbrechenden Arbeiten ist die Wirkung des Lichts eingehend experimentell geprüft worden. Wir verdanken die ersten Versuche über den Einflufs des Lichts auf Mikroben den englischen Forschern Downes und Blunt[1]), deren Resultate aufs deutlichste zeigten, dafs diffuses Tageslicht das Wachstum der Bakterien verlangsamt, direktes Sonnenlicht dasselbe vollständig hemmt, und dafs vornehmlich die stark brechenden violetten Strahlen, trotz ihrer verhältnismäfsig geringen Wärmeenergie, die wirksamsten sind. Über die Dauer der Lichteinwirkung in den verschiedenen Jahreszeiten, sowie über die Art der Lichtquelle haben wir ausführliche Berichte in der Arbeit von Dieudonné[2]). Bezüglich der Spektralfarben des Lichtes fand er, dafs rote und gelbe Strahlen (Passieren der Strahlen durch eine Lösung von Kaliumbichromat) keine Entwicklungshemmung bedingen, dagegen die blauen und violetten (die eine schwefelsaure Kupferoxydammoniaklösung passierten) bei gleichzeitiger Absorption von roten, gelben und grünen Strahlen. Dieselben übereinstimmenden Resultate ergaben ihm die Versuche bei direkter Benutzung des Spektrums eines elektrischen Bogenlichts. Um eine eventuelle Wärmewirkung auszuschalten, mufsten die Strahlen eine Schicht einer Alaunlösung passieren. Die Frage, ob die Lichtstrahlen die Bakterien selbst beeinflussen oder den Nährboden chemisch verändern durch Ent-

1) Proceeding of the Royal Society of London, 1877, XXVI, S. 488.
2) Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. 11.

wicklung eines bakteriziden Stoffes, wurde von verschiedenen Autoren mit nicht übereinstimmenden Resultaten geprüft. So glaubt Richardson[1]), dafs Wasserstoffsuperoxyd der bakterizide Stoff sei. Auch Dieudonné[2]) wies Wasserstoffsuperoxyd nach bei Belichtung unter Gegenwart von Sauerstoff. Kruse[3]) hält teils die Lichteinwirkung auf die Bakterien als solche, teils die Entwicklung eines anderen Giftstoffes für das schädliche Agens. Bie[4]) schreibt die bakterizide Wirkung einer direkten Lichteinwirkung zu; zugleich mufs aber Sauerstoff vorhanden sein, nach den Forschungen von Dieudonné. Und wenn Moment's[5]) und Kedzior's[6]) Untersuchungen zeigen, dafs Bakterien auch im Vakuum oder in einer indifferenten Luftart durch das Licht getötet werden können, so bedingt doch der Zutritt von Sauerstoff eine erhöhte bakterizide Kraft in Milch, wie auch Bies[7]) neueste Untersuchungen bestätigen. Aschkinas Caspari[8]), E. W. Wittlin[9]), ausgehend von den Resultaten, dafs die Bakterien durch die kurzwelligen Strahlen des Spektrums in ihrer Entwicklungsfähigkeit geschädigt werden, machten Versuche mit Röntgenstrahlen. Ihre Resultate waren negativ. Nachdem somit festgestellt war, dafs den blauen, violetten und ultravioletten Strahlen die bakterientötende Wirkung zuzuschreiben ist, diese Strahlen den roten, langwelligeren Strahlen gegenüber aber geringere Penetrationskraft besitzen, d. h. nicht so tief in tierisches Gewebe zu dringen vermögen, kam nun Dreyer[10]) auf die Idee, Gewebe auch künstlich in einen Zustand zu versetzen, um sie

---

1) Journal of the Chemical Society, 1893, LXIII, S. 1109.

2) Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. IX, 1894.

3) Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, 1895, XIX.

4) Ohm Lysets Wirkung paa Bacterier., Köbenhavn, 1903.

5) Ann. de l'Inst. Past., 1892, VI.

6) Archiv f. Hygiene, 1899, XXXVI.

7) L. C.

8) Über den Einflufs dissoz. Strahlen auf organ. Subst. Chem. Centralblatt, Bd. 7.

9) Chem. Zentralblatt, 1897, I (Zentralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde, 2. Abt., II, 30. XI. 1896.)

10) Mitteilung über Lichtbehandlung nach Dreyer, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 8.

für die fast wirkungslosen roten, orangen, gelben und grünen Strahlen empfänglich zu machen. Er »sensibilisierte« die Gewebe mit Erythrosin. In der Photochemie versteht man unter dem Namen optische Sensibilisatoren solche Stoffe, die imstande sind, Silbersalze empfindlich zu machen für die auf sie nur in geringem Mafse einwirkenden Strahlen des Spektrums, d. h. rot, orange, gelb und grün, während die Silbersalze sonst mit besonderer Vorliebe die blauen und violetten Strahlen absorbieren. Es ist jedoch nicht jeder Farbstoff als Sensibilisator zu verwenden. Welche Eigenschaften einem Sensibilisator zukommen müssen, darüber gibt die Photochemie noch keinen völligen Aufschlufs. Als Sensibilisatoren sind bis jetzt u. a. bekannt:

1. Erythrosin (Tetrajodfluoreszein);
2. Eosin (Tetrabromfluoreszein), dessen sensibilisierende Kraft nur ein viertel so stark wie die des Erythrosins ist;
3. Chinolinrot;
4. Cyanin (Chinolinblau, für lebendes Gewebe unbrauchbar wegen seiner Giftigkeit);
5. Alizarinblausulfid;
6. Äthylrot (als unwirksam erwiesen);
7. Ortochrom (Derivat von Äthylrot).

Diese Frage der Sensibilisation von tierischem Gewebe, um sie auch der Therapie zugänglich zu machen, hat besonders in den letzten Jahren viele Autoren zu Versuchen angeregt, und es sind schon eine Anzahl günstiger Resultate speziell der Eosin- und Erythrosin-Behandlung mit Sonnenlicht bei Lupus vulgaris von Prof. Tappeiner in München, der Neifserschen Klinik in Breslau und Finsens Lichtinstitut in Kopenhagen veröffentlicht worden. Eine befriedigende Erklärung für die Wirkung dieser eigenartigen Farbstoffe besitzen wir aber bis heute noch nicht. Bei der grofsen Bedeutung dieser Frage sowohl für die Medizin als für die Hygiene erschien es angezeigt, diejenigen Lebewesen, welche sich schon bei der Prüfung der Lichteinwirkung als sehr geeignet erwiesen, die Bakterien, auch hier zu verwenden. Die Wirkung der Sensibilisation auf Mikroorganismen ist bis jetzt noch wenig studiert worden, und so habe ich, aufgefordert

durch Herrn Privatdozenten Dr. W. Silberschmidt, Vorstand der bakteriologischen Abteilung am Hygiene-Institut in Zürich, dem ich an dieser Stelle für seine vielseitige Anregung und das stete Interesse, mit dem er meiner Arbeit folgte, bestens danke, experimentelle Versuche angestellt über das Verhalten mehrerer pathogener Mikroorganismen gegenüber der Einwirkung verschiedener Lichtarten auf mit sensibilisierenden Farbstoffen gefärbter Nährböden. Es sei mir gestattet, vorerst eine kurze Beschreibung der angewandten Methode vorauszuschicken.

Die meisten Versuche hatten die Prüfung der entwicklungshemmenden Wirkung zum Zweck. Es wurde aber auch eine Anzahl Untersuchungen vorgenommen, um die bakterientötende Wirkung zu prüfen. Die Versuche wurden meist an Kulturen auf festen Nährböden vorgenommen. Es wurden verwendet: 10 proz. Fleischwasserpeptongelatine und Fleischwasserpeptonagar mit 4 proz. Glyzerinzusatz. Die Kulturen wurden meist in sogenannten Petridoppelschalen angelegt. Die Agarplatten wurden fast ausschliefslich an der Oberfläche beschickt, die Gelatineplatten wurden zum Teil flüssig, zum Teil oberflächlich geimpft. Bouillon und Schrägagar erwiesen sich als ungeeignet, da die Resultate nicht so eindeutig waren; es wurden nur wenige Versuche damit gemacht.

Zur Färbung benutzte ich Eosin, Marke: Eosin 2 A extra Höchst, Erythrosin und später auch Fluoreszein ohne bestimmte Marke aus dem Vorrat des Instituts, und zwar in Verdünnungen 1 : 1000, 1 : 5000 und 1 : 10000. Die Nährböden wurden so gefärbt, dafs z. B. bei der Herstellung eines 1 promill. eosinhaltigen Nährbodens 100 ccm flüssigen Agars oder Gelatine mit 11 ccm einer 1 proz. Eosinlösung gefärbt, in sterile Röhrchen gegossen und nochmals sterilisiert wurden.

Folgende Bakterien wurden geprüft:

1. Choleravibrio;
2. Staphylococcus pyogenes aureus;
3. Typhusbazillus;
4. Bacterium Coli commune;
5. Bacterium phosphorescens (nur wenige Versuche).

Abends vor den Versuchen wurde von den zu prüfenden Bakterien der Stammkultur etwas Material entnommen, überimpft in Bouillon, welche ungefähr 12 Stunden im Brutschrank von 36° C aufbewahrt wurde. Die Gelatineröhrchen wurden darauf mit 3 Ösen einer Aufschwemmung der ursprünglichen Bouillonkultur in sterile Bouillon beschickt. Die Agarversuche wurden meist an Agarplatten, welche oberflächlich infiziert worden waren, vorgenommen; diese Methode lieferte die besten Resultate. Die zu prüfenden Kulturen wurden mit sterilen Wattetupfern, wie dieselben bei der Entnahme von diphtherieverdächtigem Material benutzt werden, auf Agarplatten möglichst gleichmäfsig ausgebreitet. Es sei hier besonders hervorgehoben, dafs für jede Versuchsreihe eine Kontrollreihe auf denselben Nährböden ohne Belichtung der Kulturen ausgeführt wurde. Die betreffenden Kontrollplatten wurden nach der Beschickung sofort in schwarzes Papier eingewickelt und unter denselben Bedingungen aufbewahrt wie die andern.

Einige vergleichende Versuche wurden mit Neutralrot, Karmin und Blutfarbstoff angeschlossen. Nach Ablauf der bestimmten Expositionszeit wurden die Platten ebenso in schwarzes Papier eingehüllt. Die Gelatine wurde im Brutschrank von 22° C, die Agarplatten bei 36° C aufbewahrt und einige Tage der Beobachtung bezüglich des Wachstums unterzogen, und zwar die Gelatineplatten 4—5 Tage, die Agarplatten nur 1—2 Tage, da bei den ersten Versuchen kein Wachstum mehr zu konstatieren war, wenn nicht solches schon am ersten Tage aufgetreten war. Es wurden nur sehr deutliche Unterschiede als positives Resultat notiert.

Als Lichtquellen wurde diffuses Tageslicht bzw. Sonnenlicht, Auerlicht, elektrisches Bogenlicht und Röntgenstrahlen benutzt. Die Intensität der Beleuchtung wurde gemessen bei den dem Tageslicht exponierten Kulturen mittels der Photometerskala nach Vogel[1]). Die Temperaturverhältnisse und die Dauer der Exposition werden bei den einzelnen Versuchen angegeben. Bei

1) Handbuch der Photographie, 1890.

einer ganzen Anzahl von Versuchen wurde, wie schon von früheren Autoren, eine Alaunlösung zwischen Lichtquelle und Kultur eingeschaltet, um die Einwirkung der Wärme nach Möglichkeit auszuschliefsen.

I. Versuche mit durch Rubinglas passierten Lichtstrahlen.

A. Dunkelkammer mit Gaslampe und rotem Glas.

Für diese Versuche stand mir die Dunkelkammer des hygienischen Institutes zur Verfügung. Zur Belichtung wurde ein Blechkasten konstruiert, dessen Vorder- und beide Seitenwände aus rotem Glas bestanden. Die Vorderwand selbst neigte sich nach vorn, damit eine gröfsere Aufsenfläche gleichmäfsig beleuchtet werden konnte. Das rote Glas, spektroskopisch untersucht, liefs die roten und gelben Strahlen des Spektrums durch bis an die Grenze von Grün. Agar- und Gelatineplatten sowie Gelatine-Rollröhrchen wurden in gleicher Entfernung von dieser Laterne aufgestellt. Die Wärmeeinwirkung von seiten der Laterne auf die Kulturen selbst war sehr gering. Die Versuche wurden in folgender Weise angeordnet. Die beschickten Kulturen wurden je 1, 2 bzw. 3 $\times$ 24 Stunden lang ohne Unterbrechung dem roten Lichte ausgesetzt. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Platten in schwarzes Papier eingehüllt. Eine Kontrollplatte wurde von Anfang an in schwarzes Papier eingehüllt, exponiert und bis nach Ablauf der Expositionszeit in der Dunkelkammer belassen. Als Nährböden wurden gewöhnliche, d. h. ungefärbte sowie mit Eosin und Erythrosin gefärbte je in Konzentrationen von 1 : 1000 verwendet.

Je eine Platte resp. Rollröhrchen wurde nebst dem in schwarzes Papier eingehüllten Kontroll in der Kapelle des Laboratoriums bei schwacher diffuser Beleuchtung der Beobachtung ausgestellt und am Ende des Versuches mit den übrigen verglichen. Die Resultate sind in Tabelle I zusammengestellt.

Erklärung der Zeichen:

+++ sehr üppiges Wachstum,
++ üppiges Wachstum, Kolonien nicht zählbar,
+ ziemlich viele Kolonien.
L spärliche Kolonien,
0 kein Wachstum.

Tabelle I.

Versuche im Dunkelzimmer.

(Auerbrenner und Rubinglas.)

Expositionszeit	Staphylokokkus		Cholerabazillus	
	Gelatine-rollröhrchen	Gelatine-platten	Gelatine-platten	Agar-platten
A. Ungefärbte Nährböden.				
24 Stunden	+++	+++	+++	+++
48 »	+++	+++	+++	+++
72 »	+++	+++	+++	+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++	+++	+++	+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	L	L	L	L
B. Mit Eosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden	+++		+++	
48 »	+++		+++	
72 »	+++		+++	
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++		+++	
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	+		+	
C. Mit Erythrosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden	+++		+++	
48 »	+++		+++	
72 »	+++		+++	
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++		+++	
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	+		+	

Expositionszeit	Typhusbazillus		Kolibazillus	
	Gelatine-platten	Gelatine-rollröhrchen	Gelatine-platten	Gelatine-rollröhrchen
A. Ungefärbte Nährböden.				
24 Stunden	+++	+++	+++	+++
48 »	+++	+++	+++	+++
72 »	+++	+++	+++	+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++	+++	+++	+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	+++	+++	+++	+++

Expositionszeit	Typhusbazillus		Kolibazillus	
	Gelatineplatten	Gelatinerollröhrchen	Gelatineplatten	Gelatinerollröhrchen
B. Mit Eosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden		+++		+++
48 »		+++		+++
72 »		+++		+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)		+++		+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)		++		++
C. Mit Erythrosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden		+++		+++
48 »		+++		+++
72 »		+++		+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)		+++		+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)		++		++

Expositionszeit	Bazillus Phosphoreszens	
	2% Peptonlösung	Gelatineplatten
A. Ungefärbte Nährböden.		
24 Stunden	+++	+++
48 »	+++	+++
72 »	+++	+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln	+++	+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	++	++
B. Mit Eosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.		
24 Stunden		+++
48 »		+++
72 »		+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)		+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)		++

Resümee. In Übereinstimmung mit den Befunden anderer Autoren haben auch unsere Versuche mit aller Bestimmtheit er-

geben, dafs das durch Rubinglas filtrierte rote Licht einer intensiven Auerlampe auch bei 3 Tage langer Einwirkung nicht imstande ist, die geprüften Bakterien in ihrer Entwicklung in merklicher Weise zu hemmen. Wir ersehen aus diesen Versuchen weiter, dafs Eosin und Erythrosinzusatz einen Unterschied in den Resultaten nicht ergeben hat, da das Wachstum auf den exponierten gefärbten Nährböden in gleicher Weise erfolgte wie auf den nicht gefärbten. Bei Bacillus Phosphorescens war auch keine Einbufse des Leuchtvermögens zu konstatieren; die dem diffusen Licht exponierte Kultur leuchtete nach 4 Tagen nicht mehr.

B. Kasten aus Rubinglas bei Tageslicht exponiert.

Ein aus ziemlich dunklem Rubinglas, wie es zu photographischen Zwecken benutzt wird, fabrizierter Kasten — Länge 50 cm, Breite 25 cm, Höhe 15 cm — wurde auf dem Dache des Laboratoriums dem diffusen Lichte exponiert. Das Glas zeigte spektroskopisch dieselben Verhältnisse wie dasjenige der Laterne in der Dunkelkammer. In diesem wurden Kulturen auf gefärbten und auf ungefärbten Nährböden verschieden lange Zeiten exponiert, nach verstrichener Expositionszeit in schwarzes Papier gehüllt und in den Brutschrank gestellt. Die Intensität der Belichtung wurde aufserhalb mit dem Photometer gemessen. Auch diese Versuche wurden stets von Kontrollversuchen begleitet.

Tabelle II.
Versuche im Kasten aus rotem Rubinglas.

	Staphylokokkus		Cholerabazillus	
	Agarplatten	Gelatineplatten	Agarplatten	Gelatineplatten
Datum	17. Nov.	18. Nov.	15. Nov.	18. Nov.
Temperatur	+ 4° C	+ 3° C	+ 8° C	+ 3° C
Intensität d. Beleuchtung	2 Std. 20 4 Std.: 20 + 24 6 Std. 20 + 24 + 17	8 Std.: 24	1/2 Std.: 16 1 Std. 16 + 19 1 1/2 Std.: 16 + 19 + 15 2 Std.: 16 + 19 : 15 + 10	8 Std.: 24
Expositionszeit	2, 4 u. 6 Std.	8 Std.	1/2, 1, 1 1/2 u. 2 Std.	8 Std.
Nicht gefärbter Nährbod.	+++	+++	+++	+++
Mit Eosin gefärbt. Nährb.	+++	+++	+++	+++
Mit Erythrosin gef. Nährb.	+++	+++	+++	+++
Kontroll (schwarz. Papier)	+++	+++	+++	+++

	Typhusbazillus		Kolibazillus	
	Agarplatten	Gelatine-platten	Agarplatten	Gelatine-platten
Datum	16. Nov.	18. Nov.	19. Nov.	18. Nov.
Temperatur	+ 6° C	+ 3° C	+ 4° C	+ 3° C
Intensität d. Beleuchtung	2 Std.: 22 4 Std.: 22 + 21 6 Std.: 22 + 21 + 13	8 Std.: 24	2 Std.: 18 4 Std.: 18 + 20 6 St.: 18 + 20 + 17	8 Std.: 24
Expositionszeit	2, 4 u. 6 Std.	8 Std.	2, 4 u. 6 Std.	8 Std.
Nicht gefärbter Nährbod.	+++	+++	+++	+++
Mit Eosin gefärbt. Nährb.	+++	+++	+++	+++
Mit Erythrosin gef. Nährb.	+++	+++	+++	+++
Kontroll (schwarz. Papier)	+++	+++	+++	+++

Resümee. Die in der Tabelle II zusammengestellten Versuche wurden ausgeführt, um zu prüfen, ob das diffuse Tageslicht bzw. ob das Sonnenlicht, welches viel intensiver ist als das Licht einer Auerlampe, imstande wäre, nachdem dasselbe ein rotes Glas passiert hatte, bakterizid zu wirken, ferner ob sich in diesem roten Licht die Kulturen auf Eosin- und Erythrosin-Nährböden anders verhalten als die auf ungefärbten Nährböden. Die Resultate sind alle negativ gewesen. Nach 1, 2, 4, 6 und sogar 8 Stunden Exposition wurde eine Entwicklungshemmung bei keinem einzigen der geprüften Mikroorganismen wahrgenommen.

II. Entwicklungshemmender Einflufs des Tageslichtes auf Kulturen mit und ohne sensibilisierende Farbstoffe.

Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie weiter oben bei der Beschreibung der allgemeinen Methode angegeben. Die Kulturen wurden auf dem Dache des hygienischen Institutes dem diffusen und jenachdem dem Sonnenlicht exponiert. Es sei bemerkt, dafs während der Versuchszeit in Zürich ausnahmsweise viel Sonnenschein notiert werden konnte. Um die durch die Wärmestrahlen bedingte Verflüssigung der Gelatine zu vermeiden, wurden die Rollröhrchen in mit Alaunlösung gefüllten hohen Gläsern exponiert, die Gelatineplatten dagegen einfach mit einer Glasglocke bedeckt. Auch diese Versuche wurden stets mit Kontrollversuchen in schwarzem Papier ausgeführt.

Tabelle III.

Diffuses Tageslicht und Sonnenlicht.

1. Staphylococcus pyog. aur.

	Wachstum nach			
	24 Std.	48 Std	3 Tag.	4 Tag.
Nährboden: Gelatineplatten u. Rollröhrchen.				
1. Versuch mit Eosinnährböden.				
Datum: 17. Okt. — Expositionszeit: 6 u. 13 Std. — Temperatur: 16° C. — Aufbewahrung: 22° C im Gelatine-Brutschrank.				
1. Ungefärbte Gel. nicht exponiert . .	+++			
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Gel. 6 Std. exponiert	L	+	++	+++
4. Ungef. Gel. 13 Std. exponiert . . .	L	L	+	+
5. Mit Eosin gef. Gelatine 6 Std. exponiert	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 13 Std. exponiert	0	0	0	0
2. Versuch mit Eosinnährböden.				
Datum: 6. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität der Beleuchtung: 18. 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C im Gelatine-Brutschrank.				
1. Ungefärbte Gel. nicht exponiert . .	+++			
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+	++	+++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	+	++	+++	
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Gel. 6 Std. exponiert .	0	0	0	
Nährboden: Gelatine-Rollröhrchen.				
3. Versuch mit Erythrosinnährboden.				
Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 13. — Aufbewahrung: 22° C im Gelatine-Brutschrank.				
1. Ungefärbte Gel. nicht exponiert . .	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+++	+++		
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	+++	+++		
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

Nährboden: Agarplatten.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 28. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Aufbewahrung 35° C im Brutschrank.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungefärbter Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	+	++	++	++
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	0
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	0
6. Mit Eosin Agar gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	0

2. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 12. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung 36° C im Brutschrank.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungefärbter Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	++	++	++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	+	++	++	
5. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	

3. Versuch mit Eosin- und mit Erythrosinnährboden.

Datum: 17. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur 4° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 20, 4 Std.: 20 + 24. — Aufbewahrung 35° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	++	++	++	
5. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	
7. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	
8. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	
9. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	

2. Cholera.

Nährböden: Gelatine-Rollröhrchen.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.

1. Versuch mit Eosin.

Datum: 31. Nov. — Expositionszeit: 1 u. 4 Std. — Temperatur: 11° C. — Intensität der Beleuchtung: 1 Std.: 23, 4 Std.: 23 + 24. — Aufbewahrung: 22° C im Brutschrank.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++		
3. Ungef. Gel. 1 Std. exponiert		L	+	+
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		0	1 Col.	1 Col.
5. Mit Eosin gef. Gel. 1 Std. exponiert .		0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	0

2. Versuch mit Eosin.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 1 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 1 St.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C im Brutschrank.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	++	+++	+++	+++
3. Ungef. Gel. 1 Std. exponiert	0	+	++	+++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	0
5. Mit Eosin gef. Gel. 1 Std. exponiert .	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0	0	0	0

3. Versuch mit Erythrosin.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung 22° C im Brutschrank.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++			+++
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	++			+++
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	3 Col.	7 Col.
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	0
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	0
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	0

Nährboden: Agarplatten.

	Wachstum nach			
	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 7. Nov. — Expositionszeit: $^{1}/_{2}$ u. 1 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität d. Beleuchtung: $^{1}/_{2}$ Std.: 13, 1 Std.: 13 + 17. — Aufbewahrung: 35° C.

1. Ungef. Agar nicht exponiert	+		+++	
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+		+++	
3. Ungef. Agar $^{1}/_{2}$ Std. exponiert . . .	0	0	0	
4. Ungef. Agar 1 Std. exponiert	0	0	0	
5. Mit Eosin gef. Agar $^{1}/_{2}$ Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Agar 1 Std. exponiert .	0	0	0	

2. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 23. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 1° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 35° C.

1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	+++	+++	+++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	+++	+++	+++	
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert .	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert .	0	0	0	

3. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 14. Nov. — Expositionszeit: 1 u. 2 Std. — Temperatur: 6° C. — Intensität der Beleuchtung: 1 Std.: 13, 2 Std.: 13 + 15. — Aufbewahrung: 36° C.

1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
3 Ungef. Agar 1 Std. exponiert	++	++		
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert . . .	++	++		
5. Mit Erythrosin gef. Agar 1 Std. exponiert	0	0		
6. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
4. Versuch mit Eosin- und mit Erythrosinnährboden.				
Datum: 15. Nov. — Expositionszeit: 1/2, 1, 1 1/2 u. 2 Std. — Temperatur: 8° C. — Intensität der Beleuchtung: 1/2 Std.: 16, 1 Std.: 16 + 19, 1 1/2 Std.: 16 + 19 + 15, 2 Std.: 16 + 19 + 15 + 10. — Aufbewahrung: 36° C.				
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
4. Ungef. Agar 1/2 Std. exponiert	++	++		
5. Mit Eosin gef. Agar 1/2 Std. exponiert	0	0		
6. Mit Erythrosin gef. Agar 1/2 Std. exponiert	0	0		
7. Ungef. Agar 1 Std. exponiert	++	++		
8. Mit Eosin gef. Agar 1 Std. exponiert	0	0		
9. Mit Erythrosin gef. Agar 1 Std. exponiert	0	0		
10. Ungef. Agar 1 1/2 Std. exponiert	++	++		
11. Mit Eosin gef. Agar 1 1/2 Std. exponiert	0	0		
12. Mit Erythrosin gef. Agar 1 1/2 Std. expon.	0	0		
13. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	++	++		
14. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		
15. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		

3. Typhusbazillus.

Nährboden: Gelatine-Rollröhrchen.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 31. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 11° C. — Aufbewahrung: 22° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert		+++		
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		+	++	++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		0	+	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert		0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert		0	0	0

2. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 4. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert		+++		
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		+	++	++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		+	++	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert		0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert		0	0	0

3. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+		+++	
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+		+++	
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	0	++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	+	++	
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

Nährboden: Agarplatten.

1. Versuch mit Eosinagarplatten.

Datum: 29. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 8° C. — Aufbewahrung: 36° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	++	+++	+++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	+	++	+++	
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	

2. Versuch mit Erythrosinagarplatten.

Datum: 12. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 36° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	++	++	++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	+	++	++	
5. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	

3. Versuch mit Eosin- und mit Erythrosinagarplatten.

Datum: 16. Nov. — Expositionszeit: 2, 4 u. 6 Std. — Temperatur: 6° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 17, 4 Std.: 17 + 21, 6 Std.: 17 + 21 + 18. — Aufbewahrung: 36° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++	+++		
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++	+++		

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	++	++		
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert.	0	0		
6. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		
7. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	+	++		
8. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert.	0	0		
9. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0		
10. Ungef. Agar 6 Std. exponiert. . . .	0	0		
11. Mit Eosin gef. Agar 6 Std. exponiert.	0	0		
12. Mit Erythrosin gef. Agar 6 Std. exponiert	0	0		

4. Kolibazillus.

Nährboden: Gelatinerollröhrchen.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 4. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C.

1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+	+	+	+
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	L	L	+	+
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0	0	0	0

2. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 17. Okt. — Expositionszeit: 5 u. 14 Std. — Temperatur: 16° C. — Aufbewahrung: 22° C.

1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert . .	+++			
3. Ungef. Gel. 5 Std. exponiert	L		++	+++
4. Ungef. Gel. 14 Std. exponiert . . .	L		+	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 5 Std. exponiert .	0		L in d. Tiefe	L
6. Mit Eosin gef. Gel. 14 Std. exponiert.	0		0	0

3. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 14. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std.: — Temperatur: 6° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 23, 4 Std.: 23 + 22. — Aufbewahrung: 22° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	0	++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	L	+	
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

4. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+	++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	L	++	++	
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	L in d. Tiefe	L	L	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

Nährboden: Agarplatten.

1. Versuch mit Eosinagarplatten.

Datum: 29. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 8° C. — Aufbewahrung: 36° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert . . .	++	++	++	++
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	0	0	0	0
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert ·	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert .	0	0	0	0

2. Versuch mit Erythrosinagarplatten.

Datum: 14. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 6° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 23, 4 Std.: 23 + 22. — Aufbewahrung: 36° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	+		++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	0		0	
5. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0		0	
6. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0		0	

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
3. Versuch mit Eosin und mit Erythrosinagarplatten.				
Datum: 19. Nov. — Expositionszeit: 2, 4 u. 6 Std. — Temperatur: 4° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20, 6 Std.: 18 + 20 + 17. — Aufbewahrung: 36° C.				
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	++			
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert .	++			
6. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	++			
7. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	++			
8. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert.	++			
9. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	++			
10. Ungef. Agar 6 Std. exponiert. . . .	++			
11. Mit Eosin gef. Agar 6 Std. exponiert .	0			
12. Mit Erythrosin gef. Agar 6 Std. exponiert	0			

Tabelle IV.

Versuche mit stärker verdünnter Eosinlösung.

(1 : 5000 und 1 : 10000.)

Verdünnung: 1 : 5000.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
A. Staphylokokkus.				
Nährboden: Gelatinerollröhrchen.				
Datum: 18. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 3° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C.				
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++		+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	++		+++	+++
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	++		++	+++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	L		+	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0		0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0		0	0

B. Cholerabazillus.

Datum: 18. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 3° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++		+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	++		+++	+++
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	L		L	+
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0		0	0
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0		0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0		0	0

Verdünnung: 1 : 10000.

A. Staphylokokkus pyog. aur.

Nährboden: Gelatinerollröhrchen.

Datum: 19. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 4° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 22. — Aufbewahrung: 22° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++	+++	
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		++	+++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		+	++	
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .		0	0	
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	

B. Cholera.

Datum: 19. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 4° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 22. — Aufbewahrung: 22° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++	+++	
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		L	L	
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .		0	0	
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	

Resümee. Die zahlreichen Versuche, welche hier tabellarisch mitgeteilt worden sind, beweisen, dafs die auch an ungefärbten Nährböden zutage tretende entwicklungshemmende Wirkung des diffusen Tageslichtes und namentlich des Sonnenlichtes in viel höherem Grade zu beobachten ist auf mit Eosin und mit Erythrosin gefärbten Nährböden als auf ungefärbten. Es genügt in

diesen Fällen häufig eine zweistündige Expositionszeit zu einer vollständigen Entwicklungshemmung, währenddem die gleichzeitig infizierten exponierten ungefärbten Nährböden noch nach 4 und sogar noch nach 6 Stunden Wachstum zeigen. Dafs die Versuche nicht absolut übereinstimmende Resultate ergeben haben, liegt auf der Hand. Von den geprüften Bakterienarten ist der Choleravibrio am empfindlichsten, das Bakterium coli am widerstandsfähigsten, während Typhus und Staphylokokkus zwischen beiden liegen. Auch bei den Versuchen mit ein und derselben Bakterienart sind die Resultate nicht vollständig übereinstimmend wegen den Schwankungen in der Tagesbeleuchtung. Die hier angeführten Versuche wurden in den Monaten Oktober, November und Dezember vorgenommen, d. h. zu einer Zeit, wo die Wärmestrahlen nicht von grofsem Einflufs sind. Immerhin wurde, um die Mitwirkung der Wärme auszuschalten, eine gröfsere Anzahl von Versuchen unter doppelwandigen, mit Alaun gefüllten Glasglocken ausgeführt, wie wir weiter unten sehen werden.

Wie in der Einleitung angegeben, wurden die meisten Nährböden mit 1‰ Eosin- und Erythrosinlösung gefärbt. Auf Tabelle IV sind einige Versuche mit Eosinnährböden, welche nur 1 : 5000 resp. 1 : 10000 des Farbstoffes enthielten, angeführt worden. Die Resultate sind mit den vorhergehenden übereinstimmend und beweisen, dafs eine noch stärkere Verdünnung des sensibilisierenden Farbstoffes ungefähr dieselbe Wirkung auf Bakterien ausübt.

III. Vergleichende Versuche mit nicht sensibilisierenden roten Farbstoffen.

Tabelle V.

1. Versuch mit Blutfarbstoff.

Staphylokokkus pyog. aur.

Datum: 22. Nov. — Temperatur: + 8° C. — Intensität: 2 Std.: 20, 4 Std.: 20 + 23, 8 Std.: 20 + 23 + 17.

	Expositionszeit		
	2 Std.	4 Std.	8 Std.
1. Nicht gef. Agar	+++	+	L
2. Mit Blutfarbstoff gef. Agar .	+++	+++	+++

Cholera.

Datum: 23. Nov. — Temperatur: + 1° C. — Intensität: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 12, 8 Std.: 18 + 12 + 11.

	Expositionszeit		
	2 Std.	4 Std.	8 Std.
1. Nicht gef. Agar	+++	+	+
2. Mit Blutfarbstoff gef. Agar .	+++	+++	+++

Resümee. Diese mehrmals wiederholten Versuche beweisen, dafs im Gegensatz zu den mit Erythrosin und mit Eosin erhaltenen Resultate die entwicklungshemmende Wirkung auf Bakterien auf einem mit Blutfarbstoff gefärbten Agarnährboden geringer ist als auf einem nicht gefärbten.

2. Versuch mit verschiedenen Farbstoffen.

Cholera.

Datum: 24. Nov. — Temperatur: + 1° C. — Intensität: 1 Std.: 19, 2 Std.: 19 + 22, 3 Std.: 19 + 22 + 18.

	Expositionszeit	
	1 Std.	2 u. 3 Std.
1. Ungef. Agar	+++	0
2 Mit Eosin gef. Agar. . . .	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar . .	0	0
4. Mit Karmin gef. Agar. . .	+++	0
Kontroll schwarzes Papier .		+++

Kolibazillus.

Datum: 28. Nov. — Temperatur: 0° C. — Intensität: 2 Std.: 19, 4 Std: 19 + 18.

	Expositionszeit	
	2 Std.	4 Std.
1. Nicht gef. Agar	+++	+++
2. Mit Neutralrot gef. Agar . .	+++	+++
Kontroll schwarzes Papier .		+++

Es konnte in diesen allerdings wenigen Versuchen ein Unterschied zwischen den mit Karmin und Neutralrot gefärbten Nährböden und den ungefärbten in bezug auf schädigende Einwirkung des Tageslichtes nicht beobachtet werden.

IV. Entwicklungshemmender Einflufs des Gaslichtes (Auerlicht) des elektrischen Bogenlichtes und der Röntgenstrahlen auf Gelatine und Agarkulturen mit und ohne sensibilisierende Farbstoffe.

A. Gaslicht.

Zu diesen Versuchen benutzte ich dieselbe Laterne wie bei den Rotlichtversuchen unter Weglassung des roten Glases im Dunkelzimmer. Die Platten wurden auch hier in der gleichen Entfernung von der Lichtquelle exponiert. Es bildete sich bei den exponierten Platten viel Kondenswasser. Die Wärmeeinwirkung jedoch war nicht derart, dafs sie die Gelatine verflüssigt hätte. Es wurden sowohl Agar- wie Gelatineplatten exponiert. Die Dauer der Exposition war 24 und 48 Stunden ohne Unterbrechung.

Tabelle VI.

A. Gelatineplatten.

	Staphylokokkus	Cholera		Typhusbazillus	Kolibazillus	
	48 Std.	24 Std.	48 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.
1. Ungef. Gel.	+++	+++		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. .	+++	+++		+++		
3. Mit Erythrosin gef. Gelatine.	+++	+++		+++		
Kontroll schw. Papier	+++	+++		+++		
B. Agarplatten.						
1. Ungef. Agar		+++	+++		+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar .		++	+++		+++	+++
2. Mit Erythrosin gef. Agar		+++	+++		+++	+++
Kontroll schw. Papier		+++			+++	

B. Elektrisches Bogenlicht.

Diese Versuche wurden in der Privatwohnung von Herrn Professor Dr. O. Roth, Professor der Hygiene am Eidgenössischen Polytechnikum, und im Physikgebäude des Polytechnikums (Abteil. Prof. Dr. Weifs) ausgeführt. Es sei mir gestattet, Herrn Professor

Dr. O. Roth und Herrn Professor Dr. Weifs für ihre grofse Freundlichkeit auch an dieser Stelle bestens zu danken. Mit Bacterium coli und Staphylokokkus beschickte Platten wurden 3 und 4 Stunden lang dem elektrischen Bogenlicht exponiert. Die Platten (Gelatine und Agar) wurden teils umgekehrt, teils mit dem Deckel nach oben aufgestellt und zwar möglichst nahe der Lichtquelle.

Tabelle VII.

1. Versuchsreihe.

(In der Privatwohnung von Herrn Prof. Dr. O. Roth.)

1. Versuch.

Staphylokokkus auf Agarplatte.

	Distanz von der Lichtquelle	Resultat
1. Ungef. Agar (am nächsten gelegen)	14 cm	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	16 »	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar. .	20 »	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	15 »	+++
Kontroll		+++

Alle diese Platten wurden umgekehrt, d. h. mit dem Boden der Petrischale nach oben exponiert.

2. Versuch.

	Distanz von der Lichtquelle	Resultat
1. Ungef. Agar	21 cm	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	28 »	++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	17 »	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	24 »	+++
Kontroll		+++

Alle Platten wurden mit dem Deckel nach oben exponiert (viel Kondenswasser am Deckel).

3. Versuch.

Staphylokokkus Gelatinerollröhrchen.

Schon nach einstündiger Expositionszeit trat mit Ausnahme des ungefärbten Gelatinerollröhrchens Verflüssigung infolge der ausstrahlenden Wärme ein. Nach verflossener Expositionszeit wurden sie wieder zum Erstarren gebracht. Die ungefärbten und die mit Fluoreszein gefärbten Gelatinerollröhrchen waren nach 2 Tagen vollständig verflüssigt, während die zwei andern mit Eosin und Erythrosin gefärbten eine noch nicht so starke Verflüssigung zeigten.

4. Versuch.

Kolibazillus auf Agarplatte.

	Distanz von der Lichtquelle	Resultat
1. Ungef. Agar	26 cm	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	20 »	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	26 »	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	(Platte verunglückt)	
Kontroll schwarzes Papier .		+++

Diese Platten wurden mit dem Deckel nach oben exponiert. Eine weitere Reihe von Koliagarversuchen in einer Entfernung von 33—38 cm von der Lichtquelle aufgestellt und zwar mit dem Deckel nach unten und mit je einem schwarzen Quadrat in der Mitte des Bodens ergaben üppiges Wachstum. Auch war ein Unterschied zwischen dem mit schwarzem Papier bedeckten und dem übrigen Teil bezüglich des Wachstums nicht bemerkbar.

Die Koligelatinerollröhrchen waren nach einer Stunde Exposition verflüssigt. Sie wurden zum Erstarren gebracht und zeigten nach 2 Tagen üppiges Wachstum.

2. Versuchsreihe.

(Im Laboratorium des Eidgenössischen Physikgebäudes.)

1. Versuch.

Amp. 13. 50 Volt. 200 Kerzen Lichtstärke.

Expositionszeit: 3 Stunden.

Distanz von der Lichtquelle 40 cm.

	Staphylokokkus	Kolibazillus
1. Ungef. Agar	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	L (am Rand)	++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	1 Koli	++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	+++	+++
Kontroll schwarzes Papier .	+++	+++

2. Versuch.

18 Amp. 70 Volt. 150 Kerzen Lichtstärke.

Expositionszeit: 4 Stunden.

Distanz von der Lichtquelle 30 cm.

1. Ungef. Agar	++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	+	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	L	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	++	+++
Kontroll schwarzes Papier .	+++	+++

Die Versuche mit Röntgenstrahlen wurden mir ermöglicht dank der Liebenswürdigkeit von Herrn Privatdozenten Dr. Zuppinger, Vorstand des Röntgenlaboratoriums am Kantonsspital in Zürich, welcher die Bestrahlung in freundlicher Weise ausführte. Als Nährböden wurden Agarplatten, sowohl gefärbte wie ungefärbte, verwendet. Die Platten wurden mit Staph. pyog. aur. und mit Pact. coli commune beschickt. Herr Dr. Zuppinger beleuchtete nun die Platten in Intervallen von je 10 Minuten 12 Minuten lang, im ganzen $^7/_4$ Stunden. Die Stromstärke betrug 4 Ampere und 47 Volt. Die Kontrollplatten im schwarzen Papier wurden im Dunkelzimmer aufbewahrt. Das Resultat der Untersuchungen war:

Üppiges Wachstum der Staphylokokken und Colibazillen, sowohl der den Röntgenstrahlen exponierten wie der Kontroll. Ein Unterschied bei den mit Fluoreszein, Eosin und Erythrosin gefärbten Nährböden gegenüber den ungefärbten war nicht nachweisbar. Ebenso war das Wachstum der den Röntgenstrahlen zunächst gelegenen Colibazillen gleich üppig wie das der an sie sich anschliefsenden Staphylokokkenplatten, so dafs ein entwicklungshemmender Einflufs der Röntgenstrahlen in der allerdings kurzen Zeit von $^7/_4$ Stunden nicht nachgewiesen werden konnte.

Resümee. Von den hier mitgeteilten Versuchen verdienen die mit elektrischem Bogenlicht vorgenommenen besondere Erwähnung. In drei Versuchsreihen konnte der entwicklungshemmende Einflufs auf Staphylokokken deutlich beobachtet werden, nach relativ kurzer 3—4stündiger Expositionszeit. Das widerstandsfähigere Bacterium coli hat in diesen Versuchen unter denselben Bedingungen nicht so deutliche Resultate ergeben; wir haben in früheren Versuchen die gröfsere Widerstandsfähigkeit dieses Mikroorganismus angeführt. Es mufs hier allerdings bemerkt werden, dafs sämtliche Platten mit Deckel aus gewöhnlichem Glas exponiert worden waren, die besonders wirksamen ultravioletten Strahlen werden von diesem Glas zurückgehalten. Es wären die Versuche möglicherweise noch günstiger ausgefallen, wenn wir, wie dies im Finsensschen Institut gemacht worden ist, Gefäfse aus Bergkristall verwendet hätten.

Eine deutliche entwicklungshemmende Wirkung des Auerlichtes und der Röntgenstrahlen festzustellen, ist bei der angegebenen Versuchsanordnung nicht gelungen. In einem Versuch mit Auerlicht war allerdings die Zahl der Cholerakolonien auf der Eosinplatte etwas geringer. Eine sichere Einwirkung konnte aber doch nicht nachgewiesen werden.

V. Versuche unter doppelwandigen Glasglocken.

Drei doppelwandige Glasglocken (48 cm hoch, 20 cm Durchmesser) wurden mit folgenden Lösungen versehen:

Die erste mit gewöhnlichem Wasser: 6000 ccm und 300 g Alaun zur Wärmeabsorption. In den folgenden Versuchen als »weifse Glocke« bezeichnet; in die zweite, etwas mehr fassend, kamen 7000 ccm einer Eosinlösung von 1 : 10000 und 350 ccm Alaun; als »Eosinglocke« bezeichnet. In die dritte gleichfalls 7000 ccm einer Erythrosinlösung von 1 : 10000 mit 350 g Alaun; als »Erythrosinglocke« bezeichnet. Die Lösung war nicht ganz beständig, sowohl bei Eosin als bei Erythrosin kam es zu einem Niederschlag am Boden und auf der Kuppel der inneren Wand der Glocke. Ferner kam es zu einer teilweisen Entfärbung und Zersetzung.

Für jede Glocke resp. das Glockeninnere wurde ein Gestell aus Draht mit vier Etagen konstruiert, auf welche Etagen die Petrischalen zu liegen kamen, und zwar war das Gestell konstruiert analog den in den bakteriologischen Instituten verwendeten Dreifüfsen, so dafs also eine Petrischale an ihrem Rande nur auf drei Drähten ruhte. Die Versuche mit diesen Glocken wurden wiederum in diffusem Sonnenlicht auf dem Dache des Laboratoriums ausgeführt, derart, dafs in jeder der Glocken ungefärbte und mit Eosin, mit Erythrosin und mit Fluoreszein gefärbte Plattenkulturen bestimmte Zeiten zugleich exponiert wurden. Auf die unterste Etage des Gestells kamen die Erythrosinplatten zu liegen, auf die zweite die Eosinplatten auf die dritte die Fluoreszein- und auf die vierte die ungefärbten Nährböden, alle mit dem Deckel nach oben, so dafs

zwischen den einzelnen Etagen und Platten noch genügend weite Distanzen waren. Die Kontrollplatten wurden, in schwarzes Papier eingehüllt, neben den Glocken exponiert.

Tabelle VIII.

Versuche unter doppelwandigen Glasglocken.

A. Versuche mit Gelatineplatten in farblosen, mit Eosin bzw. mit Erythrosin gefärbten Glocken.

1. Staphylokokkus.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Versuch. Datum: 17. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 24. Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	+++	+	+++
Kontroll (schw. Pap.) +++			
2. Versuch. Gelatinerollröhrchen: 1 : 10000. Datum: 9. Jan. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 3 Std.: 22, 6 Std.: 22+24. Expositionszeit: 3 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	+	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	L	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
Kontroll (schw. Pap.) +++			

2. Cholerabazillus.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Versuch. Datum: 5. Dez. — Temperatur: 0° C. — Intensität: 2 Std.: 21, 4 Std. 21+22. Expositionszeit: 2 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	+	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand
2. Mit Eosin gef. Gel.	Einige Kol. a. Rand	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	Einige Kol. a. Rand	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	Einige Kol. a. Rand	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Eryth-rosin Gl.
Expositionszeit: 4 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	0	+ Viele Kol. am Rand	
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	+	
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	0	+	
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	0	+	

2. Versuch.

Datum: 19. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 6 Std.: 17, 12 Std.: 17+20.

Expositionszeit: 12 Stunden.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Eryth-rosin Gl.
1. Ungef. Gel.	0	0	0
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	0	0	0
Kontroll +++			

3. Typhusbazillus.

Datum: 17. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 24.

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Eryth-rosin Gl.
1. Ungef. Gel.	0	+++	++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	0	++	+
Kontroll +++			

4. Kolibazillus.

1. Versuch.

Datum: 21. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 18.

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Eryth-rosin Gl.
1. Ungef. Gel.	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	L am Rand	0	L am Rand
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	++	+++	+++
Kontroll +++			

2. Versuch.

Datum: 10. Jan. — Temperatur: 4° C. — Intensität: 23.

Expositionszeit: 7 Stunden.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Eryth-rosin Gl.
1. Ungef. Gel.	++	++	++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	0	0	0
Kontroll +++			

3. Versuch.

Datum: 6. Dez. — Temperatur: 9° C. — Intensität: 2 Std.: 19, 4 Std.: 19 + 24, 6 Std.: 19 + 24 + 19.

Expositionszeit: 2 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	L	+++	++
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .	L	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Gel. .	+++	+++	+++

Expositionszeit: 4 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	} a. Rand einige Kolon.	++	++
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .		++	++
4. Mit Fluoreszein gef. Gel. .		+++	+++

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	0	+++	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .	0	+++	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel. .	0	+++	0
Kontroll +++			

B. Versuche mit Agarplatten in farbloser, mit Eosin bzw. mit Erythrosin gefärbten Glocken.

1. Staphylokokkus.

Datum: 16. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 3 Std.: 23, 6 Std.: 23 + 24.

Expositionszeit: 3 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	einige Kol.	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar. .	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	+++

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	+++
Kontroll (schw. Pap.) +++			

2. Cholera.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Versuch.			
Datum: 22. Dez. — Temperatur: 4° C. — Intensität: 3 Std.: 18, 6 Std.: 18+20.			
Expositionszeit: 3 Stunden.			
1. Ungef. Agar	+	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	+++
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	+++
Kontroll +++			
2. Versuch.			
Datum: 19. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 7 Std.: 22.			
Expositionszeit: 7 Stunden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	+	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	+++
Kontroll +++			
3. Versuch.			
Datum: 13. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 2 Std.: 21, 5 Std.: 21+23.			
Expositionszeit: 2 Stunden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	0
Expositionszeit: 5 Stunden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	++	0
Kontroll +++			

3. Typhusbazillus.

1. Versuch.

Datum: 1. Dez. — Temperatur: 3° C. — Intensität: 2 Std.: 19, 4 Std.: 19 + 23, 6 Std.: 19 + 23 + 17.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
Expositionszeit: 2 Stunden.			
1. Ungef. Agar	+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	
Expositionszeit: 4 Stunden.			
1. Ungef. Agar	+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Agar	+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	
Kontroll +++			

2. Versuch.

Datum: 10. Dez. — Temperatur: 4° C. — Intensität: 3 Std.: 18, 6 Std.: 18 + 20.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
Expositionszeit: 3 Stunden.			
1. Ungef. Agar	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	L	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	+++	+++	+++
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Agar	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	++	+++	+++
Kontroll +++			

4. Kolibazillus.

3. Versuch.

Datum: 14. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 3 Std.: 20, 6 Std.: 20 + 22.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
Expositionszeit: 3 Stunden.			
1. Ungef. Agar	++	+	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	++	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	++	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	++	+++	+++

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Agar	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	L	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	++	+++	+++
Kontroll +++			

2. Versuch.

Datum: 5. Dez. — Temperatur: 2° C. — Intensität: 23.

Expositionszeit: 6 Stunden.

1. Ungef. Agar	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	+++	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	+++	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	+++
Kontroll +++			

Resümee. Die in den beiliegenden Tabellen angeführten Versuche mit den drei Glocken sollten vor allem die Frage lösen, ob das durch eine Eosin- bzw. Erythrosinglocke filtrierte Tageslicht sich stärker entwicklungshemmend erweist als das gewöhnliche weifse Licht. Ferner sollte geprüft werden, ob die mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbten Nährböden in den gefärbten Glocken stärker beeinflufst werden als in den ungefärbten. Es ist zu bemerken, dafs die mit Eosin und Erythrosin gefärbten Lösungen der zwei Glocken nicht sämtliche übrigen Lichtstrahlen absorbierten. So wurde z. B. in einem Fall das filtrierte Licht mit dem Vogelschen Photometer unter einer roten Glocke gemessen, und die Zahl 23 abgelesen. Die zahlreichen Versuche ergeben, dafs ein Unterschied zwischen der weifsen und den roten Glocken nur darin besteht, dafs stets ohne Ausnahme die Entwicklungshemmung in der weifsen Glocke rascher und deutlicher auftrat als in den gefärbten. Auf die nicht vollständig übereinstimmenden Resultate der Eosin- und der Erythrosinglocke wollen wir nicht näher eingehen, da beide Lösungen photometrisch nicht verglichen

worden sind. Es sei aber doch darauf hingewiesen, dafs namentlich zu Beginn der Versuche die Unterschiede keine grofsen waren. Es wurden neben den mit Eosin und Erythrosin gefärbten in diesen Versuchen auch mit Fluoreszein gefärbte Nährböden exponiert. Ein Unterschied zwischen diesem letzteren Farbstoff und den zwei andern ist deutlich vorhanden gewesen. Die Fluoreszeinplatten wurden nicht so stark beeinflufst als die mit Eosin und Erythrosin gefärbten. Immerhin war die Entwicklungshemmung auf den exponierten Fluoreszeinplatten in der Regel etwas stärker als auf den ungefärbten Nährböden. Diese Versuche liefern eine Bestätigung der mit diffusem, unfiltriertem Tageslicht und mit rotem Licht erhaltenen Resultate und beweisen, dafs die Wärme keine wichtige Rolle in den vorliegenden Fällen spielt. Die Versuche zeigen uns mit aller Deutlichkeit, dafs die ungefärbten Nährböden in der farblosen Glocke früher steril bleiben als in den gefärbten Glocken, woraus hervorgeht, dafs die mit Eosin oder Erythrosin gefärbten Lichtstrahlen nicht intensiver wirken als das diffuse Licht, dafs im Gegenteil das diffuse Tageslicht stets stärker bakterizid wirkt als das durch Eosin- oder Erythrosinlösungen filtrierte.

Es konnte ferner nachgewiesen werden, dafs, bei unserer Versuchsanordnung, die entwicklungshemmende Wirkung des Lichtes ungefähr gleich grofs ist, wenn die Wärmestrahlen durch Passieren einer Alaunlösung möglichst zurückgehalten werden, als wenn das Licht unfiltriert einwirken konnte.

VI. Versuche im reflektierten Licht.

1. Versuch.

Um die Frage noch zu prüfen, ob überhaupt die roten Strahlen, als solche, Entwicklungshemmung bedingen, stellten wir Petrischalen mit ungefärbtem und mit eosinhaltigem Nährboden in umgekehrtem, rotem Glaskasten auf, d. h. das Licht konnte direkt in den Kasten von oben eindringen, in dem ein Deckel fehlte, während die Kulturen auf dem Boden des Glaskastens aufgestellt waren. Letzterer war durch vier Holzblöcke

ungefähr 10 cm über dem Boden erhoben, so dafs das Licht auch von unten Zutritt hatte.

Folgende Tabelle veranschaulicht die Resultate:

Tabelle IX.

Im roten umgekehrten Glaskasten.

1. Cholerabazillus.

Nährboden: Agarplatten.

Datum: 30. Nov. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 2 Std.: 23, 4 Std.: 23+20.

Expositionszeit: 2 Stunden.		Expositionszeit: 4 Stunden.	
1. Ungef. Agar	+++	1. Ungef. Agar	+++
2. Mit Eosin gef. Agar .	0	2. Mit Eosin gef. Agar .	0
Kontroll +++			

2. Staphylokokkus.

Datum: 23. Nov. — Temperatur: 1° C. — Intensität: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18+20.

Expositionszeit: 2 Stunden.		Expositionszeit: 4 Stunden.	
1. Ungef. Agar	+++	1. Ungef. Agar	+++
2. Mit Eosin gef. Agar .	0	2. Mit Eosin gef. Agar .	0
		Kontroll +++	

3. Kolibazillus.

Datum: 28. Nov. — Temperatur: 0° C. — Intensität: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22+18.

Expositionszeit: 2 Stunden.		Expositionszeit: 4 Stunden.	
1. Ungef. Agar	+++	1. Ungef. Agar	+++
2. Mit Eosin gef. Agar .	0	2. Mit Eosin gef. Agar .	0
		Kontroll +++	

2. Versuch mit ungefärbten Agarplatten.

Die mit den entsprechenden Bakterien beschickten Agarplatten wurden dem Lichte exponiert, und zwar hatte die eine Platte als Unterlage ein weifses, die zweite ein schwarzes und die dritte ein mit einer Eosinlösung gleichmäfsiges gefärbtes Papier. Eine vierte Agarplatte kam auf eine 1 ‰ Eosinagarschicht zu liegen.

Diese Platten werden 2 und 4 Stunden dem Lichte exponiert mit folgenden Resultaten:

Tabelle X.

Nährboden: Agarplatten.

	Staphylokokkus			Cholerabazillus		
	Weifses Papier	Schwarz Papier	EosinPap resp. Eosin Ag.	Weifses Papier	Schwarz. Papier	EosinPap. resp. Eosin Ag.
Datum	13. Jan.			12. Jan.		
Temperatur	6° C			3° C.		
Intensität	2 Std.: 20			2 Std.: 20		
	4 Std.: 20 + 21			4 Std.: 20 + 24		
Expositionszeit: 2 Stunden.						
Ungef. Agar	+++	+++	+++	0	0	0
Expositionszeit: 4 Stunden.						
Ungef. Agar	+++	+++	+++	0	0	0
Kontroll +++						

	Typhusbazillus			Kolibazillus		
	Weifses Papier	Schwarz. Papier	EosinPap. resp. Eosin Ag.	Weifses Papier	Schwarz. Papier	EosinPap. resp. Eosin Ag.
Datum	14. Jan.			16. Jan.		
Temperatur	0° C.			8° C		
Intensität	2 Std.: 20			2 Std.: 20		
	4 Std.: 20 + 22			4 Std.: 20 + 20		
Expositionszeit: 2 Stunden.						
Ungef. Agar	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Expositionszeit: 4 Stunden.						
Ungef. Agar	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kontroll +++						

Resümee. Diese Versuche zeigen mit Deutlichkeit, dafs die Wirkung des reflektierten Lichtes, sei es das Licht eines Rubinglases oder eines mit Eosin gefärbten Papieres, eine Erhöhung des entwicklungshemmenden Einflusses des Tageslichtes nicht bedingt. Die auf roter Unterlage exponierten Platten ergaben genau dieselben Resultate wie die auf schwarzem und weifsem Papier exponierten.

VII. Abtötungsversuche.

Im Brutschrank üppig gewachsene Kulturen auf ungefärbten bzw. auf mit Eosin und mit Erythrosin gefärbten Agarplatten wurden verschieden lange Zeiten dem diffusen resp. Sonnenlicht exponiert. Nach 2, 4, 6 und mehrstündiger Expositionszeit wurde jeweils einer jeden Platte mittels der Öse viel Material entnommen und auf Schrägagar und in Bouillion überimpft, nachher 24 Stunden in den Brutschrank gestellt.

NB. Es werden die wenigen mit Bouillon angestellten Versuche, da sie meist negative Resultate lieferten, hier nicht angeführt.

Tabelle XI.

Abtötungsversuche.

1. Staphylokokkus.

Nährboden: Agarplatten.

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
1. Versuch. Datum: 13. Dezember.				
2 Stunden	21	+++	L	L
7 »	21 + 22	+++	0	0
10 »	21 + 22 + 19	++	0	0
19 »		L	0	0
2. Versuch. Datum: 12. Januar.				
7 Stunden	24	+++	0	0
14 »	24 + 24	0	0	0
2. Cholerabazillus. 1. Versuch. Datum: 9. Dezember.				
2 Stunden	20	+++	L	+
4 »	20 + 19	++	0	L
6 »	20 + 19 + 17	0	0	0
2. Versuch. Datum: 6. Januar.				
2 Stunden	13	+++	+++	+++
4 »	13 + 16	+++	+++	+++
6 »	13 + 16 + 23	++	0	0
9 »	24	++	0	0
16 »	23	0	0	0

3. Kolibazillus.

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
Datum: 12. Januar.				
7 Stunden		+++	+++	+++
14 »	Zeitweise	+++	++	++
21 »	intensives	+++	L	L
26 »	Sonnenlicht	++	0	0
33 »		++	0	0

4. Typhusbazillus.

1. Versuch.

Datum: 12. Dezember

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
2 Stunden	16	+++	+++	+++
7 »	16 + 20	+++	++	++
12 »		+++	++	+
18 »	Intensive	++	L	0
24 »	Sonne	+	0	0

2. Versuch.

Datum: 7. Januar.

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
2 Stunden	16	+++	+++	+++
6 »	16 + 23	+++	+++	+++
11 »		+++	+	+
14 »	Zeitweise	++	L	L
22 »	intensives	L	0	0
29 »	Sonnenlicht	0	0	0

Resümee. Die genügend zahlreichen Versuche, welche zu verschiedenen Zeiten mit ziemlich übereinstimmenden Resultaten ausgeführt worden sind, beweisen, daſs die Kulturen auf der Oberfläche von Eosin und von Erythrosinagarplatten viel rascher nach Exposition am Tageslicht abgetötet werden als die Kulturen auf nichtgefärbten Nährböden.

Die sensibilisierenden Farbstoffe bedingen nicht nur eine Erhöhung des entwicklungshemmenden, sondern auch eine Steigerung des bakterientötenden Einflusses des Tageslichtes.

VIII. Versuche mit Nährböden, die vor der Impfung dem Lichte ausgesetzt wurden.

Ungefärbte, mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbte Agarplatten wurden ohne vorhergehende Beschickung mit Bakterien dem Tageslichte verschieden lange Zeiten exponiert. Nach Ablauf der Exposition wurde ein Teil der Platten sofort geimpft und in den Brutschrank gestellt, der andere Teil in dem Arbeitstisch bis zum folgenden Tage unter Lichtabschlufs aufbewahrt und erst dann infiziert und in den Brutschrank gebracht.

Die Resultate veranschaulicht folgende Tabelle:

Tabelle XII.

Versuche mit Nährböden, die vor der Impfung dem Lichte ausgesetzt wurden.

1. Staphylokokkus.

	Wachstum nach 24 Std.	Wachstum nach 48 Std.
A. Impfung der Platten sofort nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 1 Stunde.		
1. Ungef. Agar	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	+++	
3. Mit Erythrosin gef. Agar	+++	
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	+++	
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	0	L
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	L
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	0
B. Impfung am Tage nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	++	+++

2. Kolibazillus.

	Wachstum nach 24 Std.	Wachstum nach 48 Std.
A. Impfung der Platten sofort nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 1 Stunde.		
1. Ungef. Agar	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	+++	
3. Mit Erythrosin gef. Agar . . .	+++	
4. Mit Fluoreszein gef. Agar . .	+++	
Expositionszeit der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	+++	+++
2 Mit Eosin gef. Agar	0	+
3. Mit Erythrosin gef. Agar . .	+	++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar . .	L	+
B. Impfung am Tage nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	eine Kol.	eine Kol.
3. Mit Erythrosin gef. Agar . . .	++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar . .	0	eine Kol.

Resümee. Diese Versuche bestätigen die bekannte Tatsache, dafs dem Tageslicht ausgesetzte Nährböden sich für die Züchtung der Bakterien weniger eignen. Vergleichen wir die vorliegende Tabelle mit den früheren, so ist ohne weiteres ersichtlich, dafs der Unterschied zwischen ungefärbten und sensibilisierten Platten nicht zutage tritt, wie bei Belichtung infizierter Kulturen. Diese Versuche beweisen, dafs die entwicklungshemmende Wirkung, welche weiter oben als regelmäfsiger Befund beschrieben worden ist, nicht identifiziert werden darf mit der direkten Schädigung des Nährbodens durch Lichteinwirkung. Der Einflufs der Sensibilisierung kommt hier kaum in Betracht. Schon früher wurde von Dreyer beobachtet, dafs Lösungen sensibilisierender Farbstoffe nicht schädlich wirken nach der Exposition, sondern während derselben. Unsere Resultate liefern eine Bestätigung dieser Annahme.

Nachdem die Resultate unserer Versuche mitgeteilt worden sind, sei es uns gestattet, die in der Literatur veröffentlichten Befunde früherer Autoren auf diesem Gebiete in Kürze zu resümieren, soweit dieselben für die Deutung unserer Ergebnisse von Interesse sind. Die Mediziner, welche sich mit der Sensibilisierungsfrage befafst haben, Tappeiner, Neisser, Finsen und ihre Schüler, haben auch die ersten bakteriologischen Arbeiten auf diesem Gebiete veranlafst.

Raab[1]) prüfte die Wirkung photodynamischer Stoffe auf Bakterien, ohne jedoch auf entscheidende Resultate zu kommen, während nach Tappeiner und Jodlbauer[2]) Bac. prodig. durch eine 0,2proz. Eosinlösung nach 5—7 Tagen, durch eine stärkere Erythrosinlösung nach 2—4 Tagen getötet wurde. Nach Jakobsohns Untersuchungen aus Marmoreck s Laboratorium wird der Tuberkelbazillus durch Eosin nach 24 Stunden getötet.

Währenddem Untersuchungen mit Bakterien bis jetzt nur in geringerer Zahl mitgeteilt worden sind, sind die Versuche über die Wirkung sensibilisierender Stoffe auf Infusorien, speziell Paramäzien, ausgedehnter.

Raab[3]) resümiert seine diesbezüglich angestellten Versuche in folgende Punkte:

Die Einwirkung des Tageslichtes hat in Versuchen mit Acridin, Phosphin und Eosin einen schädlichen Einflufs und zwar beruht nach ihm dieser Einflufs auf Hervorrufung von Fluoreszenz. In einer späteren Arbeit schreibt Raab[4]), dafs Chinolinrot und Harmalinlösung gegenüber Paramäzien dieselbe Fluoreszeinwirkung zeigten wie Acridin und Eosin. Die Wirkung des nicht fluoreszierenden Fuchsins und der Kristallviolettlösung wird dagegen im Lichte nicht verstärkt. Raab sieht in diesen Phänomenen eine vom Licht hervorgerufene erhöhte Giftwirkung von verschiedenen fluoreszierenden Stoffen, während es sich nach Halberstädter[5]), der analoge Versuche anstellte, um eine Ver-

1) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1900, S. 1810.

2) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 25.

3) Zeitschrift f. Biologie, 1900, Bd. 39.

4) Zeitschrift f. Biologie, 1902, Bd. 49.

5) Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 16.

schiebung der Lichtempfindlichkeit in ein anderes Strahlgebiet handelt. Ledoux-Lebard[1]) hält den Prozefs für eine Zersetzung des Eosins durch die aktiven Strahlen und somit Entwicklung einer für Paramäzien giftigen Substanz. Ebenso schreibt auch Jakobsohn[2]) (Versuche mit Fröschen, die mit Eosin injiziert wurden) der Giftwirkung der betreffenden Stoffe entscheidende Bedeutung zu.

Nach Tappeiner[3]) ist die Fluoreszenz das Entscheidende; Sensibilisierung und photodynamische Wirkung sind keine identischen Vorgänge; beide Wirkungen besitzen nun jene Stoffe, welche nicht blofs absorbieren, sondern auch fluoreszieren. Dreyer[4]) macht geltend, dafs die Wirkung dieser besprochenen Stoffe als eine Sensibilisierung aufgefafst werden mufs. Er hält das Phänomen für eine direkte Lichtwirkung, die durch die Gegenwart der betreffenden Stoffe ermöglicht wird, also für eine Analogie mit der Wirkung optischer Sensibilisation auf die Silberhaloide. Nach ihm ist die Fluoreszenz bei der Sensibilisation nicht das Entscheidende, denn es gibt einerseits Stoffe, welche stark fluoreszieren, aber schwach oder gar nicht sensibilisieren (Fluoreszein, Aeskulin), und anderseits gibt es Stoffe, die nicht fluoreszieren und doch sensibilisieren (Cyanin). Ferner ist die Absorption ebenfalls nicht bestimmend, denn es gibt sowohl fluoreszierende wie nicht fluoreszierende Stoffe, welche stark absorbieren und trotzdem nicht für die Strahlen, die sie absorbieren, sensibilisieren. Natürlich sind Fluoreszenz und Absorption von Bedeutung, denn würden einmal die gelben und grünen Strahlen nicht absorbiert, so würden sie auch keine tötende Wirkung ausüben können, und was die Fluoreszenz anbetrifft, so sind alle bei diesen Versuchen angewandten Farbstoffe mehr oder weniger stark fluoreszierend.

Die Sensibilisierung beruht auch kaum darauf, dafs sich während der Belichtung im Sensibilisator giftige Stoffe bilden,

1) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1902, Nr. 8.

2) Zeitschrift f. Biologie, 1901, Bd. 41.

3) Tappeiner und Jodlbauer, Deutsch. Arch. f Klin. Med., 1904, Bd. 80, S. 427.

4) Mitteilungen aus Finsens Medizinischem Lichtinstitut, 1904, Heft 7.

die auf Mikroorganismen und tierisches Gewebe schädlich einwirken, denn wird ein Sensibilisator erst 10 Minuten lang belichtet und danach zur Sensibilisierung benutzt, so wird dessen sensibilisierende Fähigkeit bedeutend herabgesetzt.

Was die chemische Konstitution dieser sensibilisierenden Stoffe anbelangt, so gehören Eosin, Erythrosin und Fluoreszein zu der Gruppe der Phthaleine[1]) und sind Säurefarbstoffe: Eosin = Tetrabromfluoreszein, Erythrosin = Tetrajodfluoreszein, Fluoreszein = Resorcinphthalein. Das Erythrosin unterscheidet sich von Eosin durch das Fehlen der Fluoreszenz. Was die Beziehung zwischen Fluoreszenz und chemischer Konstitution anbetrifft, so bezeichnet Richard Meyer[2]) gewisse Atomgruppen als fluorophore Gruppen, welche als Ursache der Fluoreszenz organischer Verbindungen anzusehen sind. Wirkt das Licht auf diese fluoreszierenden Substanzen, so bildet sich (nach den quantitativen und qualitativen Versuchen) von Straub[3]) bei einer gegebenen Menge Eosin und Überschufs von Sauerstoff und von oxydablen Körpern dauernd aktiver Sauerstoff. Die Giftwirkung der belichteten Eosinlösung beruht nach ihm auf Autooxydation, indem zugunsten eines anwesenden oxydablen Körpers das Peroxyd reduziert wird, wobei der oxydable Körper verbrennt. In seinen weiteren Versuchen[4]) (mit einer Lösung von 100 g H_2O, 0,005 Eosin, 6,0 Jodkali mit Stärkekleister) zeigte Straub, dafs nach etwa 30 Minuten Sonneneinwirkung das möglichste Maximum der Jodabspaltung erreicht ist. Die ausgeschiedene Jodmenge erwies sich direkt proportional der Konzentration des Eosins.

Dafs aber eine wirkliche chemische Verbindung bei Belichtung sauerstoffhaltiger Eosinlösung entsteht, ergibt der von Ledoux-Lebard[5]) erbrachte Versuch. Er konnte nachweisen, dafs bei der Belichtung von Eosinlösung ein Zersetzungsprodukt entsteht, das imstande ist, auch im Dunkeln Paramäzien zu töten.

---

1) G. Lunge, chemisch-technische Untersuchungsmethode, Bd. 3.
2) Chemisches Zentralblatt, 1897, Bd. 2.
3) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 25.
4) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 38.
5) C. c.

In Bestätigung früherer Arbeiten haben auch unsere Versuche ergeben, dafs das diffuse Tageslicht, bzw. Sonnenlicht, einen deutlich schädigenden Einflufs auf Bakterien ausübt. In der von uns gewählten Versuchsanordnung — es wurde stets mit grofsen Mengen Bakterien gearbeitet — sind die untersuchten pathogenen Mikroorganismen Cholera, Staphylokokkus, Typhus und Koli in Zeiten, welche zwischen zwei und sechs Stunden varierten, abgetötet worden. Nur selten war auch noch auf den sechs Stunden exponierten infizierten Platten Entwicklung von Kolonien zu beobachten. Der schädliche Einflufs des Lichtes kann beträchtlich gesteigert werden, wenn man statt gewöhnlichen Nährböden, mit sensibilisierenden Farbstoffen gefärbte verwendet. Mit Eosin und mit Erythrosin gefärbte Gelatine und nachher infizierte Gelatine und Agarplatten zeigen gegenüber den nicht gefärbten Kulturen keinen merklichen Unterschied im Wachstum der untersuchten Mikroorganismen. Wurden hingegen diese gefärbten Nährböden nach der Beschickung dem Lichte ausgesetzt, so konnte mit aller Deutlichkeit eine beträchtliche Zunahme des schädigenden Einflusses des Lichtes wahrgenommen werden. Ähnliche, wenn auch nicht so prägnante Unterschiede zwischen Eosin- und Erythrosin-Kulturen und Kulturen auf nicht gefärbten Nährböden konnte auch durch Belichtung mit elektrischem Bogenlicht nachgewiesen werden. Dafs die Farbe bei dieser Wirkung keine wesentliche Rolle spielt, beweisen die Versuche mit Karmin, mit Neutralrot und mit Blutfarbstoff. Wurden die Nährböden statt mit Eosin mit den erwähnten Substanzen gefärbt, so war eine Erhöhung der entwicklungshemmenden Wirkung des Lichtes nicht zu konstatieren. Die mit Blutfarbstoff versetzten Platten zeigten sogar eine üppigere Entwicklung als die farblosen. Eine Wirkung des reflektierten Eosinfarbstoffes war ebenfalls nicht zu beobachten.

Nicht nur die entwicklungshemmende, sondern auch die bakterientötende Eigenschaft des Tageslichtes wird erhöht, wenn der Nährboden mit den in Frage stehenden Farbstofflösungen gefärbt worden ist. Zur Hervorbringung der erwähnten erhöhten bakteriziden Wirkung sind schon geringe Mengen Farbstoff aus-

reichend (in unsern Versuchen wurde meist 1 ‰ Eosin- und Erythrosinlösung verwendet; sogar Zusätze von nur 1 : 5000 und 1 : 10000 Eosin haben dieselben Resultate ergeben). Die Versuche mit Fluoreszein haben gezeigt, dafs mit diesem Farbstoff gefärbte Nährböden der Lichtwirkung gegenüber etwas empfänglicher sind als die ungefärbten; immerhin war der Unterschied gegenüber Eosin und Erythrosin ein ziemlich grofser, währenddem zwischen Eosin und Erythrosin grofse Unterschiede in den Resultaten nicht beobachtet werden konnten.

Für unsere Frage wichtig ist ferner die in allen Versuchen gemachte Beobachtung, dafs auch infizierte sensibilisierende Nährböden im roten Licht nicht anders beeinflufst werden als ungefärbte, dafs somit eine Aktivierung der roten Lichtstrahlen durch Sensibilisation nicht beobachtet werden konnte. Um eine Erklärung für diese eigenartigen Wirkungen zu erhalten, wurde eine Reihe weiterer Versuche angestellt. Das rote Licht, welches im Dunkelzimmer oder durch Filtration des Tageslichtes durch ein Rubinglas erzeugt worden war, hatte, wie dies schon angegeben worden war, keinen deutlichen Einflufs auf Bakterien.

Wurde das Licht durch eine Alaunlösung filtriert, um die Wärmestrahlen einigermafsen auszuschalten, so stellte sich heraus, dafs die Resultate nicht verändert wurden; da ferner unsere Versuche während der kalten Jahreszeit angestellt worden sind, dürfen wir wohl annehmen, dafs der Wärme keine oder jedenfalls keine wesentliche Bedeutung bei der entwicklungshemmenden Wirkung des Lichtes zukommt. Weitere Versuche mit durch Eosin und durch Erythros in filtrierten Lichtstrahlen haben den Beweis erbracht, dafs das direkte Tages- bzw. Sonnenlicht intensiver wirkt auf ungefärbte sowohl wie auf gefärbte Nährböden als das filtrierte farbige Licht.

Unsere Versuche führen uns zur Annahme, dafs die spezifische Wirkung der sensibilisierenden Farbstoffe bei intensiver Beleuchtung nur dann zutage tritt, wenn der betreffende Farbstoff sich im Nährboden selbst befindet und nicht zum Vorschein kommt, wenn der Farbstoff oberhalb oder unterhalb (Filtration resp. Reflexion des Lichtes) des beschickten Nährbodens

sich befindet. Ohne eine bestimmte Erklärung für diese eigenartige Wirkung geben zu wollen, können wir aber doch auf Grund unserer Versuche die weiter oben angedeuteten Ansichten der Autoren unterstützen bzw. widerlegen. Die beobachtete Wirkung der mit Eosin und Erythrosin gefärbten Nährböden läfst sich als eine Sensibilisierung erklären unter der Bedingung, dafs dieser Bezeichnung, wie dies Busck[1]) in seiner Kritik der letzten Arbeiten von Tappeiner angibt, eine ebenso ausgedehnte Bedeutung gegeben werde wie in der Photographie. Diese Sensibilisierung bedingt eine Verstärkung der Wirkung des Tages- bzw. elektrischen Bogenlichtes, welches sich am leichtesten dadurch erklären läfst, dafs strahlende Spektren, welche für gewöhnlich nicht wirksam sind, durch die betreffenden Substanzen wirksam gemacht werden. Ob daneben der Fluoreszenz, der Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds, dessen Entstehung in den Nährböden bei Lichteinwirkung nachgewiesen worden ist, der Spaltung von Halogenen, eine grofse Bedeutung zukommt, wollen wir dahingestellt sein lassen. Unsere Resultate lassen auch diese Annahme zu. Tappeiner spricht von einer photodynamischen Wirkung und zieht diese Bezeichnung vor.

Zwischen den sensibilisierten und den nicht sensibilisierten Nährböden sind in unsern Versuchen keine qualitativen, sondern nur quantitative graduelle Unterschiede beobachtet worden.

Schlufsfolgerungen.

1. Die entwicklungshemmende Wirkung des Lichtes auf Agar- und Gelatineplatten, welche mit Choleravibrio, Staphylokokkus pyogenes aureus, Bakterium typhi, Bacterium coli commune infiziert worden sind, wird bedeutend erhöht, wenn man dem Nährboden geringe Mengen sog. sensibilisierender Farbstoffe (Eosin und Erythrosin) zusetzt. Ein Zusatz von 1 ‰ Eosin oder Erythrosin, ja sogar von 1 : 5000 und 1 : 10000 Eosin

1) Mitteilungen aus Finsens Medizinischem Lichtinstitut, 1904, Heft 8.

zum Nährboden genügt für die erwähnte Wirkung. Das Fluoreszein hat sich als weniger wirksam erwiesen.

2. Die bakterientötende Wirkung des Lichtes auf Kulturen wird unter denselben Bedingungen erhöht, so dafs die Mikroorganismen auf mit Eosin und mit Erythrosin gefärbten Nährböden rascher abgetötet werden als auf ungefärbten.

3. Neben dem Sonnenlicht und dem diffusen Tageslicht konnte auch mit elektrischem Bogenlicht die entwicklungshemmende Wirkung, wenn auch in geringerem Grade nachgewiesen werden, währenddem das Gasglühlicht (gewöhnlicher Auerbrenner) auch nach mehreren Tagen Exposition eine deutliche Wirkung nicht ausübte.

4. Der schädigende Einflufs des Tageslichtes wurde nicht erhöht, wenn die Nährböden statt mit sensibilisierenden, mit andren roten Farbstoffen (Karmin, Neutralrot und Blutfarbstoff) gefärbt worden waren.

5. Das rote Licht, wenn dasselbe durch ein Rubinglas erhalten wird, zeigte keine schädigende Einwirkung auf Bakterien. Eine mehrtägige Exposition der Kulturen im Dunkeln, in dem roten Lichte einer photographischen Lampe und eine vielstündige Exposition am Tageslicht unter Rubinglas hatte eine entwicklungshemmende Wirkung auf Bakterien nicht zur Folge. Auch die auf sensibilisierten Nährböden exponierten Kulturen zeigten keinen Unterschied gegenüber den ungefärbten. Die benutzten Farbstoffe scheinen somit eine Sensibilisierung für rotes Licht nicht hervorzurufen.

6. Wurde das Tageslicht durch eine verdünnte Lösung eines sensibilisierenden Farbstoffes filtriert, so konnte eine Erhöhung des schädigenden Einflusses nicht konstatiert werden. In jedem Fall war das unveränderte Tageslicht wirksamer, sowohl gegenüber gefärbten als gegenüber ungefärbten Nährböden.

7. Ein Unterschied zwischen direktem und durch Alaunlösung filtriertem Licht konnte nicht beobachtet werden, so dafs wir annehmen dürfen, dafs die Wärme eine Hauptrolle bei diesen bakteriziden Eigenschaften nicht spielt.
8. Das reflektierte rote Licht eines Rubinglases oder einer mit Eosin gefärbten Unterlage hatte keinen deutlichen Einflufs auf die Lichtwirkung.
9. Wurden die Nährböden vor der Infektion dem Tageslichte exponiert, so war eine Verschlechterung der Entwicklung sowohl auf ungefärbten als auf gefärbten Nährböden zu beobachten. Ein deutlicher Unterschied zwischen Eosin-, Erythrosin- und ungefärbten Nährböden trat nicht auf, wenn die Infektion nach der Belichtung erfolgte.
10. Die mitgeteilten Resultate lassen sich am ehesten durch die Annahme erklären, dafs die Sensibilisierung eine Steigerung der Lichtwirkung zur Folge hat, in der Weise, dafs für gewöhnlich unwirksame Strahlen wirksamer werden, bzw. dafs die Gesamtwirkung des weifsen Lichtes erhöht wird. Es ist möglich, dafs die durch Lichteinwirkung auftretende Bildung von Wasserstoffsuperoxyd und die Abspaltung bakterizid wirkender Stoffe auch eine Rolle spielt. Der Unterschied zwischen dem Einflufs des Tageslichtes auf die sensibilisierten und auf andere Nährböden war in unseren Versuchen nur ein quantitativer.

Die Agglutination bei Gasphlegmonebazillen.

Von

Dr. G. Werner,
Kreisassistenzarzt in Marburg.

(Aus der hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experim Therapie in Marburg a/L. Vorstand: Prof. Bonhoff.)

Die nähere Bestimmung und Charakterisierung des Fränkelschen Bacillus phlegmones emphysematosae, welchen man als den häufigsten Erreger der mit Gasbildung einhergehenden und oft so schwer verlaufenden entzündlichen Prozesse am lebenden Körper sowie vieler Gasbildungen in der Leiche angesehen hatte, führte namentlich durch die eingehenden Anaerobenuntersuchungen von Grafsberger und Schattenfroh (5–7) in den letzten Jahren zu dem Resultat, dafs die durch E. Fränkel (2–4) noch in seinen letzten Publikationen versuchte Abgrenzung gegenüber anderen Anaeroben aus der Gruppe der Buttersäurebildner sich nicht aufrechterhalten lasse. Unter Anderen zeigte Kamen (9), dafs die dem unbeweglichen Buttersäurebazillus (Grafsberger und Schattenfroh) gegenüber für differentiell-charakteristisch gehaltenen Eigenschaften, wie Pathogenität, Inkonstanz der Sporenbildung u. a. auf der einen wie auf der andern Seite in wechselndem Mafse vorkommen. Eine Identifizierung des Fränkelschen Gasbazillus mit dem unbeweglichen Buttersäurebildner konnte nicht mehr umgangen werden, nachdem auch die Sonderstellung als einer »pathogenen

Varietät« desselben durch die Versuche Kamens unhaltbar gemacht worden war. Auch mit dem aus Milch gezüchteten Granulobacillus buthyricus immobilis liefsen sich von ihm Gasphlegmonen beim Meerschweinchen erzeugen.

War nun schon durch die grofse Verbreitung dieses seither als harmlos angesehenen Keims, welcher sich nach Grafsberger und Schattenfroh in 80% der Marktmilch finden soll — was wir übrigens für die hiesige Gegend nicht bestätigen konnten — das allgemeine Vorkommen von Gasphlegmoneerregern in ein ganz anderes Licht gerückt worden, so dürfte dies in noch viel höherem Mafse nach den neueren Forschungen der Wiener Schule auf diesem Gebiete der Fall sein. Die seither genauer bekannten streng anaeroben, unbeweglichen, nur ganz ausnahmsweise Sporen bildenden, Kohlehydrate vergärenden Buttersäurebildner, unter welche auch der Fränkelsche Gasphlegmonebazillus eingegliedert werden mufste, bilden hiernach nur eine Erscheinungsform der betreffenden Bakterienart, wie sie besonders auf zuckerhaltigen Nährböden zur Entwicklung kommen soll. Auf kohlehydratarmen, aber eiweifsreichen Nährböden dagegen soll dieselbe bewegliche regelmäfsig sporulierende und Eiweifsfäulnis bedingende Typen hervorbringen (Passini [11, 12]).

Durch diese Variabilität, welche übrigens auch in ähnlicher Weise von Grafsberger und Schattenfroh bei Rauschbrand und malignem Ödem beobachtet wurde, würde für die Gasphlegmonebazillen ein Übergang zu anderen, seither streng von ihnen geschiedenen Anaerobengruppen geschaffen werden, welche zur Eiweifsfäulnis in Beziehung stehen und im menschlichen Darm sowohl als auch sonst in der Natur — meist wohl in Sporenform — allgemein verbreitet sind. Es kann somit nicht auffallen, wenn auch die Gasphlegmonebazillen jetzt als regelmäfsige Bewohner des menschlichen, namentlich auch des kindlichen Darms bezeichnet werden (Passini).

Wenn also die morphologischen und kulturellen Eigenschaften der aus Fällen unzweifelhafter Gasphlegmone gewonnenen Stämme bei näherem Studium sich als immer weniger genügend erwiesen, diese aus einer grofsen Gruppe weit verbreiteter Anaeroben ab-

zugrenzen, so lag es nahe, das Agglutinationsphänomen zur Differenzierung heranzuziehen, das uns ja nach dieser Seite hin bei anderen Infektionskrankheiten so aufserordentliche Dienste geleistet hat. Auch Schattenfroh (7) bezeichnet bei der jetzt bekannten grofsen Variabilität dieser Anaeroben die Reaktionen mit spezifischem Serum als die sichersten Mittel zur Unterscheidung fraglicher Ödem- und Rauschbrandbazillenstämme! Allein es sind mir über diese Verhältnisse bei Gasphlegmonebazillen bis jetzt nur ganz wenige Veröffentlichungen bekannt geworden.

Als erster erzielte Kamen (9) bei seinen schon erwähnten Versuchen, welche ihm auch auf anderem Wege keine charakteristischen Unterschiede zwischen mehreren aus Gasphlegmonen gezüchteten und aus normaler Milch gewonnenen Stämmen ergeben hatten, ein negatives Resultat bezüglich der Agglutination. Bei der von ihm benutzten Versuchsanordnung, auf welche wir später noch zurückkommen werden, konnte er eine Agglutininbildung überhaupt nicht konstatieren.

Bachmann (1) arbeitete in erster Linie mit den den Gasphlegmonebazillen nahe stehenden Bazillen des malignen Ödems. Bei der Immunisierung von Tieren mit mehreren Stämmen erhielt er nur bei einem Teil derselben (drei von fünf) ein den gleichen Stamm in höheren, die beiden anderen in geringen Verdünnungen agglutinierendes Serum. Die anderen erzeugten überhaupt keine Agglutination. Sämtliche Sera wurden auch von ihm mit einem Stamm des Fränkelschen Gasphlegmonebazillus geprüft, ohne dafs aber eine Agglutination beobachtet werden konnte.

Positive Resultate mit der Agglutination von Gasphlegmonebazillen berichtete demgegenüber Passini (11). Bei Studien über pathologische Zustände, welche durch vermehrte Darmfäulnis verursacht zu sein schienen, sollte die Frage von ihm näher untersucht werden, ob es hierbei vielleicht im Blute zur Bildung spezifischer Agglutinine für gewisse, im Darm vorkommende und zur Eiweifsfäulnis in enger Beziehung stehende Bakterienarten kommen könne. In erster Linie handelte es sich um den Bacillus putrificus Bienstock, einen beweglichen, leicht sporu-

lierenden, strengen Anaeroben, welcher seither von der Gruppe der Gasphlegmonebazillen oder unbeweglichen Buttersäurebildner durch Gestalt und Eigenschaften weit getrennt gehalten worden war. Infolge der oben erwähnten, von Grafsberger und Schattenfroh ausgehenden Beobachtungen aber, dafs letztere durch Züchtung auf Eiweifsnährböden in eine vollständig veränderte, in Form und Lebenserscheinungen dem Putrificus Bienstock so ähnliche Form übergeführt werde, dafs dieselbe sich in älteren Kulturen gar nicht mehr von diesem unterscheiden lasse, ergaben sich auch bei den Untersuchungen dieses Autors bezüglich der Agglutinationserscheinungen ganz eigenartige, nahe Beziehungen zwischen dem Putrificus Bienstock und den Gasphlegmonebazillen, aber nur in ihrer neu entdeckten, sporulierenden, beweglichen Form, nähere als zwischen dieser und ihrem seither bekannten, asporogenen, unbeweglichen Typus. Das Putrificusserum agglutinierte sowohl den sporulierenden, beweglichen Gasphlegmonebazillus als dessen Serum den Putrificus, das Serum der asporogenen Form aber ebensowenig den Putrificus, wie dessen Serum die asporogene Form des Gasphlegmonebazillus. Dagegen agglutinierte das Serum der asporogenen Form auch die sporulierende, nicht aber war das Umgekehrte der Fall.

Abgesehen aber von diesen überraschenden, durch die Agglutinationserscheinungen angedeuteten nahen Beziehungen zu anderen Bakteriengruppen, erzielte Passini, jedenfalls durch Immunisierung mit Gasphlegmonestämmen der seither bekannten Art, Sera, welche seine — anscheinend sämtlichen — Stämme von Gasphlegmonebazillen agglutinierten, bei den wenigen allerdings, über welche er nähere Angaben macht, nur in geringeren Verdünnungen (1 : 30—80).

Schon bevor diese Untersuchungen Passinis mir bekannt geworden waren, hatte ich auf der hiesigen hygienischen Abteilung, angeregt durch einen dort von mir untersuchten Fall von menschlicher Gasphlegmone mit Schaumniere (vgl. [13]), zu dem hierbei gewonnenen Stamm von Gasphlegmonebazillen eine Reihe anderer gesammelt, welche morphologisch und kulturell

sich im ganzen gleichartig zeigten und dem früher von E. Fränkel u. A. umschriebenen Bild der Gasphlegmonebazillen entsprachen. Dieselben sollten durch Agglutinationsversuche auf ihre gegenseitigen Beziehungen untersucht werden, zumal ihre Herkunft eine ganz verschiedenartige war:

1. Stamm GB. Aus dem Unterhautzellgewebe in der Nähe einer Bifsverletzung beim Menschen, von welcher eine tödliche Gasphlegmone ausging.

   Stamm GBN. Aus der Schaumniere desselben Falls (vgl. [13]).

2. Stamm T. Aus einem auf Tetanus mit negativem Resultat untersuchten ausgeschnittenen Schufskanal mit Resten des Filzpfropfens aus der chirurgischen Klinik (vgl. [13]).

3. Stamm L. Aus der Schaumleber eines gesunden, unbehandelten Kaninchens, welches nach der Tötung 20 Stunden im Brütschrank gelegen hatte (vgl. [13]).

4. Stamm Gr(anulo)-B(acillus) I aus Marktmilch.

5. Stamm Gr(anulo)-B(acillus) II, desgl. Beides die von Kamen ([9]) bei seinen Untersuchungen verwandten und uns gütigst zur Verfügung gestellten Stämme.

6. Stamm Fr. Ein von Herrn E. Fränkel-Hamburg uns bereitwilligst überlassener Stamm seines Bacillus phlegmones emphysematosae.

7. Stamm M. Aus einem gashaltigen Abszefs der Impfstelle eines mit einem Milzbrandsporenseidenfaden geimpften und an Milzbrand eingegangenen Meerschweinchens.

8. Stamm MK I. Aus der Gasphlegmone eines mit gesunder, steril entnommener und verriebener Kaninchenmilz subkutan geimpften Meerschweinchens.

9. Stamm MK II, desgl. (von einem andern Meerschweinchen).

10. Stamm GPh. Aus einer gashaltigen, blutigen Flüssigkeit, welche nach komplizierter, mit Erde verunreinigter Unterschenkelfraktur durch einen Einschnitt am Oberschenkel entleert worden war. (Aus der chirurgischen Klinik.)

Die Stämme, von denen die beiden letzten erst wenige Tage vor Abschlufs der Versuche gewonnen waren und hochgradige Virulenz für Meerschweinchen besafsen, waren durch Stichkulturen in hohem Zuckeragar zum Teil seit Monaten fortgezüchtet und verhielten sich im ganzen gleich, wenn auch kleine Differenzen in der Üppigkeit des Wachstums, sowie in der Fähigkeit, Gas zu bilden, vorhanden waren. Nur Stamm 2 T. zeigte mit der Zeit ein abweichendes Verhalten, indem die Bakterienmassen des Stichkanals eine zähschleimige, fadenziehende Beschaffenheit annahmen und der Bakterienrasen bei Oberflächenkulturen dem Nährboden so fest anhaftete, dafs eine Abnahme mit der Öse und Verreibung zu Agglutinationszwecken unmöglich war. Dieser Stamm wurde deshalb später aufser Betracht gelassen.

Von den übrigen Stämmen rührten also drei von Gasphlegmonen des Menschen her (1, 6, 10), zwei aus normaler Milch (4 und 5), einer sicher (3) und zwei mit Wahrscheinlichkeit (8 und 9) aus den Bauchorganen gesunder Kaninchen, schliefslich einer von einer unkontrollierbaren Wundinfektion beim Meerschweinchen (7).

Es handelte sich für mich zunächst darum, ob sich gegenüber den negativen Resultaten Kamens überhaupt durch Immunisierung mit Gasphlegmonebazillen ein agglutinierendes Serum erzielen lasse. Ferner aber wollte ich womöglich erstens ein der Gasphlegmonegruppe gegenüber reagierendes Serum, zweitens ein solches für die aus der Milch stammenden Buttersäurebazillen zu erhalten suchen. Es wurden deshalb Kaninchen zunächst mit den Stämmen 1 (GBN) und 4 (GrB I) immunisiert, und als sich ohne Mühe hierdurch spezifisch agglutinierende Sera erreichen liefsen, die aber auf die Stämme 3 (L) und 6 (Fr) keine Wirkung äufserten, so wurde später eine Immunisierung weiterer

Tiere mit diesen Stämmen L. und Fr. angeschlossen. Mit den so erhaltenen vier Seren wurden sodann sämtliche, inzwischen auf die oben angeführte Zahl angewachsenen Stämme, sowie auch im Anschlufs daran die in der Institutssammlung befindlichen Stämme von malignem Ödem und Rauschbrand auf Agglutination wiederholt untersucht.

Es erschien nicht unwahrscheinlich, dafs der Mifserfolg Kamens, welcher zur Immunisierung lebende Kulturen subkutan appliziert hatte, durch diese Immunisierungsmethode bedingt war. Auf Veranlassung des Herrn Prof. Bonhoff, unter dessen Leitung ich auf seiner Abteilung diese Arbeiten ausführen konnte, verwandte ich deshalb zur Erreichung spezifischer Agglutinationserscheinungen genau dieselbe, hauptsächlich auf den Angaben Kolles beruhende Methode, wie sie auf der Abteilung für Agglutinationsarbeiten bei Typhus- und anderen Bakterien im Gebrauch ist, wenn dieselbe auch gerade bei anaeroben Bakterien entschieden umständlicher ist, als die von den meisten Untersuchern bei ähnlichen Arbeiten benutzten. Dieser Punkt erscheint mir bezüglich des Resultats von gröfserer Wichtigkeit, als vielfach angenommen zu werden scheint. Ich sehe mich deshalb auch veranlafst, etwas ausführlicher darauf einzugehen.

Zur Immunisierung wurden nur 20—24 Stunden alte Zuckeragar-Oberflächenkulturen verwendet, welche in Petrischalen unter der Wasserstoffglocke bei 37,5° gewachsen und unter Zuhilfenahme einer geeigneten Platinöse mit Kochsalzlösung möglichst ohne Verletzung des Nährbodens abgeschwemmt waren. Vor der direkt in den Blutkreislauf (Ohrvene) des Kaninchens erfolgenden Injektion wurden dieselben 1 Stunde auf 60° erhitzt. Diese Injektionen wurden im allgemeinen ohne besondere Reaktion von den Tieren gut vertragen, was ja auch den früheren Erfahrungen bezüglich der Impfung lebender Gasphlegmonebazillen beim Kaninchen entspricht, und alle 6—7 Tage in gesteigerter Dosis wiederholt. 8—10 Tage nach der letzten Injektion wurde sodann Blut zur Gewinnung des Serums aus der Karotis entnommen.

Zur Anstellung des Agglutinationsversuchs wurde das Serum ferner mit physiologischer Kochsalzlösung in verschiedenen Graden

verdünnt, in Quantitäten von 1 ccm in entfettete Röhrchen gefüllt, und das Bakterienmaterial sodann wieder aus etwa zwanzig Stunden alten, unter Wasserstoff gewachsenen Zuckeragar-Oberflächenkulturen in Mengen von einer Normalöse unter sorgfältigster Verreibung an der Wandung hinzugefügt und das Resultat nach zweistündigem Aufenthalt im Brütschrank zunächst makroskopisch, aber unter jedesmaliger Kontrolle durch den mikroskopischen Befund im hängenden Tropfen, festgestellt.

Zu dieser mikroskopischen Kontrolle in jedem Falle war ich nach zahlreichen vergleichenden Untersuchungen dadurch gekommen, dafs sich die fein verteilten, unbeweglichen, sehr grofsen Bakterien in ihren Aufschwemmungen etwas anders verhielten als z. B. Typhusbazillen und andere kleine, bewegliche Arten. Die sorgfältigsten Verreibungen der verwendeten Kulturen in Kochsalzlösung sahen bei genauer makroskopischer Betrachtung schon so aus, dafs man, wenn es sich um Typhusbazillen handelte, mit Bestimmtheit eine beginnende Agglutination diagnostiziert hätte. Auch senkte sich das Bakterienmaterial unter vollständiger Klärung der darüberstehenden Flüssigkeit in etwa 12—24 Stunden völlig zu Boden. Allerdings konnte man durch kräftiges Aufschütteln dann immer wieder den früheren Zustand herstellen. Verschiedene von mir versuchte Zusätze vermochten an dieser Tatsache nichts zu ändern. Nur die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen brachte mit Sicherheit den Beweis, dafs von einer Agglutination keine Rede war.

Demgegenüber trat bei entsprechender Konzentration des Serums — durchschnittlich bei Verdünnungen bis auf 1 : 100 — und positivem Ausfall der Reaktion eine nicht zu verkennende Agglutination in sehr eklatanter Weise fast augenblicklich in Erscheinung. Nach makroskopisch sehr deutlich sichtbarer Häufchenbildung setzte sich schon in wenigen Minuten das Bakterienmaterial in dicken, klumpigen Massen unter vollständiger Klärung der Flüssigkeit zu Boden, und kein Schütteln vermochte wieder eine gleichmäfsige Verteilung zu erzielen. Die — übrigens sehr deutliche Bilder von Agglutination liefernde — mikroskopische Kontrolle war in diesen Fällen eigentlich unnötig.

Bei stärkeren Verdünnungen jedoch, wenn es sich darum handelte, die Grenzwerte der Reaktion festzustellen, war eine solche nicht zu entbehren, da die makroskopische Beurteilung, entsprechend den bei den Kontrollverreibungen gemachten Beobachtungen, zu Täuschungen Anlafs gab. Die mikroskopische Untersuchung vermochte dann häufig die makroskopisch gestellte Diagnose auf Agglutination nicht zu bestätigen. Als Grenzwerte wurden auch nur die Verdünnungsgrade angenommen, bei welchen die mikroskopische Untersuchung des hängenden Tropfens, und zwar in erster Linie bei schwacher Vergröfserung, noch deutliche Agglutination erkennen liefs.

Bezüglich des Zeitpunkts für die Feststellung des Resultats — nach 2 Stunden bei Brutschranktemperatur — mufs ich bemerken, dafs ich auch nach 24 Stunden, wenn die inzwischen zu Boden gesunkenen Bakterienmassen aufgeschüttelt waren, eine Änderung des Resultats niemals habe feststellen können.

Ausführung und Resultate der Versuche.

1. Kaninchen Nr. 309, immunisiert mit Stamm 1 G B N.

Vom 12. 7. 04 bis 15. 8. 04 in 6—7tägigen Zwischenräumen 6 Injektionen von 1—10 Kulturen von Petrischalen. Blutentnahme am 24. 8. 05.

Agglutination mit Stamm 1 G B und 1 G B N bis 1 : 1000 positiv.

2. Kaninchen Nr. 280 immunisiert mit Stamm 4 Gr B I (Kamen).

Vom 12. 7. 04 bis 8. 8. 04. 5 Injektionen von 1—8 Petrischalen-Kulturen, Blutentnahme am 15. 8. 04.

Agglutination mit Stamm 4 Gr B I und 5 Gr B II bis 1 : 10000 positiv. Mit den weiteren damals zur Verfügung stehenden Stämmen 1—3 und 6 zeigten beide Sera keine Agglutination.

3. Kaninchen, grau, immunisiert mit Stamm 3 L.

Vom 22. 11. 04 bis 6. 12. 04. 3 Injektionen von 2, 4 und 6 Schalenkulturen. Blutentnahme am 15. 12. 04.

Agglutinationswert damals nicht festgestellt.

4. Kaninchen, weifs, immunisiert mit Stamm 6 Fr (Fränkel).

Vom 22. 11. 04 bis 6. 12. 04. Dreimalige Injektion von 2, 4 und 6 Schalen. Blutentnahme am 15. 12. 04.

Agglutinationswert damals nicht festgestellt.

Agglutinationswerte Ende Januar 1905.

Stämme	I	II	III	IV
	Immunsera von Stamm			
	1. GBN	4. Gr B I	3. L	6. Fr
1. GBN	1 : 250 = +	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —
3. L	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 200 = +	1 : 10 = —
4. Gr B I	1 : 10 = —	1 : 1000 = +	1 : 10 = —	1 : 10 = —
5. Gr B II	1 : 10 = —	1 : 600 = +	1 : 10 = —	1 : 10 = —
6. Fr	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 500 = +
7. M	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —
8. MK I	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —
9. MK II	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —
10. GPh	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —
malign. Ödem	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —
Rauschbrand	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —	1 : 10 = —

— bedeutet keine Agglutination.
\+ » deutliche »

Zu dieser Tabelle ist unter Bezugnahme auf frühere Angaben noch zu bemerken, dafs Stamm 1 GB, der sich völlig identisch mit 1 GBN zeigte, weil aus demselben Falle stammend, nicht mehr weitergezüchtet worden war.

Der Rückgang des Agglutinationswerts der Sera I und II ist in Anbetracht dessen, dafs dieselben jetzt fünf Monate alt waren, nicht auffallend. Die verhältnismäfsig niedrigen Werte der Sera III und IV erklären sich durch den geringen Grad der Immunisierung sowie durch ihr Alter von ca. vier Wochen.

Aus diesen Versuchsresultaten geht zunächst hervor, dafs in jedem Falle durch die geschilderte Immunisierung spezifische Agglutinine erzeugt wurden, und zwar in nicht unbedeutenden Mengen. Zeigten doch die beiden ersten Sera noch ausgesprochene Agglutination bei Verdünnungen von 1 : 1000 bzw. 1 : 10000. Auch bei den beiden anderen, zu deren Erzeugung die Immunisierung viel weniger hoch getrieben worden war, betrugen die Werte noch nach einem Monat 1 : 220 und 1 : 500. Leider war es infolge anderer Arbeiten und der Umständlichkeit der Anaerobenzüchtung versäumt worden, den Titre sofort nach Gewinnung des Serums festzustellen!

Ferner aber ergab die Prüfung mit sämtlichen Stämmen nur in einem Falle bei Serum III die Agglutination mit einem anderen als dem zur Immunisierung verwendeten Stamm, und zwar handelte es sich dabei um einen solchen, welcher gleichzeitig von Kamen aus einer anderen Probe Marktmilch gewonnen war und sich auch im übrigen als mit dem ersteren gleichartig erwiesen hatte. Es ist somit in diesem Falle nicht unwahrscheinlich, dafs es sich um einen Stamm nicht nur derselben Gruppe — etwa der in der Milch vorkommenden —, sondern ganz derselben Herkunft gehandelt haben könne!

Die Agglutination der homologen Stämme war, wie schon erwähnt, eine sehr ausgesprochene, während bei den anderen, auch in stärkeren Konzentrationen, keine Spur einer Reaktion vorhanden war. Irgend welche Beziehungen etwa zwischen den aus menschlichen Gasphlegmonen herrührenden oder den zum Darmkanal des Kaninchens in Beziehung stehenden oder den aus Gasphlegmonen der Meerschweinchen gezüchteten Stämmen konnten also auf diesem Wege nicht festgestellt werden.

Da der Beweis für die Agglutinabilität der Bakterien, wenigstens bezüglich der vier zur Serumbereitung benutzten Stämme sowie des Stammes 5 Gr. B. II erbracht ist, so kann sich dies Verhalten nur erklären entweder dadurch, dafs den Gasphlegmonebazillen, wie den Koliarten, die Eigenschaft fehlt, für ihre ganze Art typische Agglutination hervorzurufen, während eine solche für die einzelnen Stämme oder Stämme gleicher Herkunft von ihnen erzeugt werden kann. Oder aber die grofse Gruppe unsrer sog. Gasphlegmonebazillen zerfällt noch in zahlreiche Arten, von welchen keine, wenigstens in bezug auf die zur Serumerzeugung benutzten vier Stämme, mehrfach in unserer Sammlung vertreten war, mit Ausnahme vielleicht von 5 Gr. B. II. Die weitere Abgrenzung derselben müfste dann der so emsigen, aber noch weiten unbekannten Gebieten gegenüber stehenden Anaerobenforschung überlassen bleiben!

Zu ähnlichen Resultaten kommt auch Bachmann in seinen schon erwähnten Untersuchungen über die Bazillen des malignen Ödems. Neben manchen morphologischen und kulturellen Eigen-

schaften veranlassen ihn gerade die Resultate seiner Agglutinationsversuche zu dem Schlusse, dafs die Bezeichnung Bacillus des malignen Ödems ein Sammelbegriff sei.

Passini dagegen gelang es, durch Immunisierung mit Gasphlegmonebazillen Sera zu erzielen, durch welche auch seine anderen Stämme agglutiniert wurden. Nur über ein solches macht er aber nähere Angaben: Das durch Immunisierung eines Kaninchens mit einem aus Fäeces stammenden asporogenen Gasbazillenstamm gewonnene Serum agglutinierte den eigenen Stamm bis 1 : 120, drei andere noch in Verdünnungen 1 : 30, 1 : 60 und 1 : 80. Von diesen stammte der letztere ebenfalls aus Stuhl, über die Herkunft der beiden anderen ist nichts angegeben.

Auf die von den Wiener Forschern beschriebene eigenartige und seither unbekannte Variabilität der Gasphlegmonebazillen und die sich daraus ergebenden Konsequenzen möchte ich hier um so weniger eingehen, als es mir bei den mir zu Gebote stehenden Stämmen bis jetzt weder durch Züchtung auf erstarrtem Blutserum, noch auf koaguliertem Eiweifs gelungen ist, dieselbe zu beobachten. In den Serumkulturen, in welchen die Stämme, wie schon früher von Fränkel und den meisten Beobachtern angegeben — mit fötidem Geruch (H_2S), auch bisweilen mit Gasbildung kräftig wuchsen, zeigte sich überhaupt keine wesentliche Veränderung der charakteristischen Stäbchen, auch nicht nach mehreren Generationen auf diesem Nährboden. Bei den Kulturen auf Eiweifs dagegen sah man schon bald eigentümliche Formveränderungen, helle Stellen im gefärbten Protoplasma, wie sie schon früher wiederholt geschildert worden sind, auch spindelförmige Auftreibungen bis zu enormer Gröfse, wie sie Grafsberger bei Rauschbrand beschrieben und abgebildet hat, niemals aber Eigenbeweglichkeit, Geifseln oder deutliche Sporenbildung.

Es ist wohl unmöglich, heute auf Grund des vorliegenden geringen Materials die Ursache der anscheinenden Inkongruenz der Passinischen Resultate mit dem unseren klarzustellen. Begeben wir uns aber einmal in das Reich der Vermutungen, so ist es nicht unwahrscheinlich, dafs die vier untersuchten

Stämme Passinis sämtlich, wie es von zweien ausdrücklich angegeben ist, dem menschlichen Darminhalt entstammen, zumal er wiederholt betont, die Gasphlegmonebazillen regelmäfsig aus Stühlen von Erwachsenen und Säuglingen gezüchtet zu haben. Dieselben können also ebenso einer gleichen Herkunft sein und einer bestimmten — vielleicht derselben — Gruppe in dem grofsen Geschlecht der sog. Gasphlegmonebazillen angehören, als die beiden von Kamen gleichzeitig aus Milch gezüchteten Stämme, welche in meinen Versuchen allein von dem gleichen Serum agglutiniert wurden. Unter dieser Konstellation würde die Inkongruenz der Resultate nur eine scheinbare sein und dem Agglutinationsphänomen noch eine wichtige Rolle für die Abgrenzung kleinerer Gruppen in dem grofsen Reich der anscheinend gleichartigen Anaeroben zufallen. Hierzu bedürfte es jedoch allerdings noch weit ausgedehnter Untersuchungen!

Gerade im Hinblick auf solche aber möchte ich zum Schlufs unter Bezugnahme auf die Untersuchungen Bachmanns und Passinis noch auf einige Einzelheiten derselben näher eingehen, da diese Verhältnisse gerade für Anaeroben noch nicht häufig beschrieben sind:

Zur Ausführung der Immunisierung benutzte Bachmann mehrtägige — bis 18 Tage alte — Gelatine- und Agarkulturen, letztere in einer nach Zerkleinerung des Agarzylinders vorgenommenen Aufschwemmung mit Bouillon. Dieselben wurden bei Meerschweinchen und Kaninchen teils lebend, teils nach ¼ stündiger Erhitzung auf 100° intraperitoneal, intramuskulär, meist aber subkutan, nie direkt in die Blutbahn eingespritzt. Bei den Agglutinationsversuchen kommen die erwähnten Aufschwemmungen von Agarkulturen mit Bouillon oder Kochsalzlösung wieder zur Verwendung. Dieselben enthielten immer Bestandteile des festen Nährbodens und wurden wegen möglichster Abkürzung der aeroben Herstellung nicht filtriert. Für die lange Erhaltung der Beweglichkeit der Ödembazillen — was ja bei den unbeweglichen Gasphlegmonebazillen nicht in Betracht kommt — erwies sich dabei Bouillon als die geeignetere Flüssigkeit, doch wurde in ihr gegenüber der Kochsalzlösung die Bildung

zur Täuschung führender Pseudohäufchen beobachtet. Als grofser Mifsstand, welcher die Ausschaltung zahlreicher Versuchsreihen bedingte, wurde das Auftreten vollständiger oder unvollständiger Agglutination in den Kontrollen empfunden. Derselbe liefs sich am besten durch Benutzung möglichst junger Kulturen und stark verdünnter Aufschwemmungen beseitigen. Für die makroskopische Beobachtung in Fickerschen Röhrchen zeigte sich ferner Kochsalzlösung als geeigneter wie Bouillon, da in ihr eine schwache Reaktion deutlicher erkannt werden konnte.

Passini verwandte zur Immunisierung seiner Tiere ebenfalls ganze Kulturen der verschiedensten Art. Ohne nähere Angaben erwähnt er Zuckerbouillon-, Gelatine-, Milch-, Eiweifs- und Blutserumkulturen. Zur Beobachtung der Agglutinationsreaktion nimmt er mit Vorliebe älteres Bakterienmaterial und empfiehlt besonders die Faulflüssigkeit (!) aus alten Blutserumkulturen sowie alte, nicht mehr überimpfbare oder durch Erhitzung abgetötete Zuckerbouillonkulturen, während bei jungen, lebenden Bakterien die Einwirkung des Serums oft inkonstant sei!

Die Vergleichung von Versuchsresultaten bedingt nun eine gewisse Gleichheit der Methodik, und ihre weitere Verwertung hat zur Voraussetzung, dafs die letztere nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft und Erfahrung einwandfrei ist. Nach beiden Richtungen hin kann ich gegenüber den Versuchen Passinis gewisse Bedenken nicht unterdrücken. Wenn auch diese Verhältnisse bei den anaeroben Bakterien, deren Eigenart nicht zu verkennen ist, noch nicht so genau studiert sind, so haben sich doch aus der intensiven Bearbeitung der Agglutinationsfrage in den letzten Jahren ziemlich allgemein anerkannte Grundsätze über ihre Theorie und Praxis gebildet, deren grundlose Vernachlässigung die Zuverlässigkeit eines Resultats nicht zu erhöhen geeignet ist.

So erscheint es mir geboten, so lange wir die Agglutinine als Reaktionskörper von Substanzen der Bakterienleiber auffassen, bei der Immunisierung, wenn irgend angängig, diese allein zu verwenden ohne Anhäufungen ihrer Stoffwechselprodukte, also in frisch gewachsenen Kulturen. Ferner ohne Bei-

mengungen des durch die eigene Zusammensetzung und durch die in ihm entstandenen Zersetzungs- und Stoffwechselprodukte nicht als indifferent zu betrachtende Nährbodens, also in aufgeschwemmten Oberflächenkulturen. Neben anderem könnte bei der von Passini angewandten Methode die Miteinführung der verschiedensten Eiweifskörper bei der Immunisierung zur Bildung spezifischer Eiweifspräzipitine führen, welche dann in ähnliches Eiweifs enthaltenden Bakterienaufschwemmungen bei stärkeren Konzentrationen Niederschläge und Trübungen hervorrufen und, von dem Bakteriengehalt völlig unabhängig, sehr leicht zu Täuschungen führen könnten.

Ob eine Abtötung der Bakterien durch Erhitzung, wie bei den Typhusbazillen, sich zur besseren Erzielung von Agglutininen empfehlen würde, mufs durch Versuche festgestellt werden. Zur Immunisierung von Kaninchen wäre sie bei Gasphlegmonebazillen nicht nötig, bei Meerschweinchen aber, für welche viele Stämme derselben äufserst pathogen sind, kaum zu umgehen. Jedenfalls hat die von mir angewandte Methode einer einstündigen Erhitzung auf 60° Sera höheren Agglutinationswertes erzielt, als sie Passini anzugeben hat.

Was nun das zur Anstellung des Agglutinationsversuchs geeignete Bakterienmaterial betrifft, so ist wohl auch hierfür die Forderung junger, lebender, von Beimengungen freier Bakterienmassen in feiner Verteilung allgemein anerkannt. Wie dieselbe auch bei den vorliegenden Verhältnissen erfüllt werden kann, haben meine Versuche gezeigt. Die Vorteile einer klaren Kochsalzlösung als Medium liegen ferner sowohl für die makroskopische als für die mikroskopische Beobachtung auf der Hand. Auch Bachmann erkannte dieselben gegenüber der Bouillon, in welcher andere Niederschläge (»Pseudohäufchen«) Täuschungen hervorriefen. Ebenso führten ihn seine Erfahrungen zur Verwendung junger Kulturen, wie schon oben erwähnt wurde.

Wenn Passini nun behauptet, dafs die Reaktion bei jungen, lebenden Kulturen oft inkonstant sei und von alten abgetötetem, zersetztem Material besser ausgelöst würde, so steht er mit den sonstigen Erfahrungen in Widerspruch. Auch ich habe mich

gerade bei dem vorliegenden Material hiervon nicht überzeugen können, war im Gegenteil immer überrascht gewesen über die aufserordentlich prompte und ins Auge fallende Reaktion bei Verdünnungen meiner Sera bis etwa 1 : 100. Allein auf die bestimmten Angaben Passinis hin wollte ich von einer Nachprüfung nicht absehen und war begierig, ob hierbei eventuell auch eine Reaktion bei anderen Stämmen eintreten würde. In Ermangelung alter Zuckerbouillonkulturen mufste ich zu Zuckeragarkulturen greifen, die ich nach Zerkleinerung mit Bouillon aufschwemmte. Der Erfolg war wenig ermutigend: Selbst bei stärkerem Serumkonzentrationen trat Häufchenbildung und Sedimentierung in nicht sehr deutlichem Unterschied gegen die ebenfalls nicht homogen bleibenden Kontrollen erst langsam ein, blieb aber, soweit man dies bei einem so unklaren Bilde sehen konnte, welches sich auch durch mikroskopische Untersuchung nur schlecht aufklären liefs, nur auf die eigenen Stämme beschränkt.

Auch durch Erhitzung abgetötete Zuckeragar-Oberflächenkulturen lieferten dasselbe Resultat und bestätigten die Angaben Passinis über die leichtere Agglutinabilität abgestorbener Bakterien nicht.

Es dürfte auch wohl recht zweifelhaft sein, ob man in dieser Situation nicht lieber der Inkonstanz der jungen, lebenden Stämme, als der Konstanz dieses alten, abgestorbenen, in veränderter, durch Gärung zersetzter Nährflüssigkeit befindlichen Bakterienmaterials Glauben schenken müfste!

Unter diesen Umständen erscheint mir eben die Berücksichtigung der allgemein anerkannten Grundsätze der Serodiagnostik, wenn diese sich auch in erster Linie auf die Verhältnisse der Typhusbazillen, als Prototyp der agglutinablen Bakterien beziehen, auch bei solchen Untersuchungen notwendig, nachdem sich ihre Durchführbarkeit mit dem Resultat einer glatten, durchsichtigen Versuchsanordnung bei unseren Versuchen gezeigt hat. Speziell kann bei Verwendung von in ihrer Zusammensetzung inkonstanten, durchaus nicht indifferenten Nährflüssigkeiten als Medium der so überaus empfindlichen Reaktion ein einwandfreies Resultat nicht erwartet werden.

Literatur.

1. Bachmann, Zentralblatt f. Bakt. Originale, Bd. 37.
2. E. Fränkel, Über Gasphlegmonen. Hamburg, 1893.
3. » Münchener med. Wochenschrift, 1899.
4. » Zeitschrift f. Hyg. u. Inf., 1902, Bd. 40.
5. » Lubarsch u. Ostertag, 8. Jahrg., 1902.
6. Grafsberger und Schattenfroh, Archiv f. Hygiene, 1900, Bd. 37.
7. » » » » » » 1903, Bd. 48.
8. » » » Münch. med. Wochenschr, 1900.
9. Kamen, Zentralblatt f. Bakt. Originale, 1904, Bd. 35.
10. Paltauf, Art. Agglutination in Kolle u. Wassermanns Handbuch d. path. Mikroorganism., 1904.
11. Passini, Münchener med. Wochenschrift, 1904, S. 1283.
12. » Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1905, Bd. 49.
13. Werner, Archiv f. Hygiene, 1904, Bd. 50 S. 274.

Vorschlag eines neuen Apparates zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Baumaterialien.

Von

Ing. **R. Bianchini** und Dr. **E. Cler.**

Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin.
(Direktor: Prof. Dr. A. Pagliani.)

Die genaue Kenntnis des spezifischen Gewichts der Baumaterialien hat vom hygienischen Gesichtspunkte aus sehr oft seine interessante Seite, sei es nun für Nachforschungen in der Praxis oder wissenschaftliche Bestimmungen. Tatsächlich stehen nun unter den Erscheinungen, die den Hygieniker bezüglich der vorgenannten Materialien interessieren, die wichtigsten, d. h. die Transmission der Geräusche, die Leitungsfähigkeit für Wärme und Feuchtigkeit, das Kapillarvermögen und sogar die Leichtigkeit der Stauberzeugung, in Verbindung mit der gröfseren oder kleineren Dichtigkeit der Körper; in allen diesen Fällen erwirbt der spezifische Wert angesichts der Übereinstimmung zwischen Dichtigkeit und spezifischem Gewicht eine weitgehende Bedeutung für die daraus entspringenden praktischen Folgen.

Es ist allgemein bekannt, dafs das spezifische Gewicht das Gewicht der Einheit des Volumens ist. Es ist also, will man es bestimmen, unbedingt erforderlich, das scheinbare Volumen des Körpers mit der gröfsten Sorgfalt abzuwerten, und diese Vornahme gerade bietet heute noch

die gröfste Schwierigkeit, während die Abschätzung des Gewichts mit den heute üblichen Präzisionswagen wenigstens für diesen Zweck hinreichend genau ist.

In der Absicht, genaue Bestimmungen zu erhalten, und in der Überzeugung, dafs die direkteste und genaueste Methode immer noch in Abzug des scheinbaren Volumens von der Volumensteigerung einer den Versuchskörper umgebenden Flüssigkeit bestehe, dies nicht zuletzt auch, weil sie nur ein einmaliges Abwiegen erheischt (vorausgesetzt immerhin, dafs die verwendete Flüssigkeit keine Fehlerquellen erzeugt infolge von Aufsaugung oder anderen chemischen Erscheinungen), haben wir einen Apparat geschaffen, den wir nachstehend näher beschreiben werden.

Beschreibung des Apparates.

Beschreibung des Apparats. Dieser Apparat besteht aus einem zylinderförmigen, gläsernen Gefäfs mit einer leichten, die ganze Höhe entlang laufenden Rinne. Seine auf Grund der Berechnung möglicher und der Methode anhaftenden Fehlerquellen bestimmte Gröfsenverhältnisse sind folgende: Innerer Durchmesser[1]) 45 mm, Höhe verschieden, je nach den auszuführenden Bestimmungen. Das Gefäfs hat starke Wände und kräftigen Boden und ist mit der dem Apparat zur Stütze dienenden Fufsplatte aufs festeste verbunden.

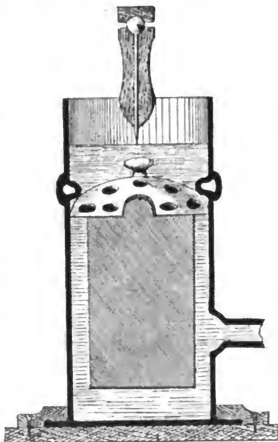
Von dem unteren Teile des Gefäfses geht eine kurze Röhre aus, die ca. 1 cm vom Boden desselben absteht und dem Ende zu verdickt ist.

Am Rand dieses Gefäfses, oder genauer, auf der Rinne ist vermittelst einer Druckschraube ein gabelartiges Gestell angebracht, das an seinem oberen Teil eine Art Klammer mit kreisförmigem Ausschnitt trägt. In diesem ruht eine gläserne Stange, die am Ende in eine Spitze ausläuft und parallel zu der Wand

1) Eine leichte Formveränderung im Schnitt des Glases führt zu keinen bedeutenden Verschiebungen in der Berechnung der Schnittfläche, so dafs wir also das Wort Durchmesser gebrauchen können, um den Durchmesser des eigentlichen kreisförmigen Teils besagten Schnittes auszudrücken.

des Gefäfses steht. Diese Anordnung hatte besonders die Erleichterung des Ersatzes einer eventuell gebrochenen Spitze im Auge.

Das freie Ende der Spitze steht 4 mm von der Wand des Glases ab und 8 mm von den an der Wand des Gefäfses angebrachten Glasspitzen. Diese Glasspitzen, ihrer drei, stehen gleichweit auseinander und können zusammen in verschiedener Entfernung vom Boden des Glases angebracht werden, treten 5 mm weit ins Innere hinein und dienen dazu, den die Materialien fassenden Teil des Apparats unter Flüssigkeit zu halten. Es ist dies ein leicht konkaves Ebenholzdeckelchen; am Rande trägt es drei Öffnungen, die den Durchgang vorgenannter Glasspitzen gestatten, überdies besitzt es Löcher, die dem Austreten der Luft und der Flüssigkeit dienen. In seinem Zentralteile nehmen wir eine weitere Öffnung wahr, die es gestattet, auf ihm ein anderes, stärker gehöhltes Deckelchen anzubringen, das einen ganz besonderen Zweck hat. Auch dieses zweite Deckelchen, ebenfalls aus Ebenholz, hat drei Durchlafsöffnungen, zahlreiche Löcher, deren eines sich im Gipfelpunkte vorfindet.


Fig. 1. Vertikaler Schnitt des Gefäfses.

Vor dem Teile der Gefäfswand, der dem Experimentierenden gegenüber zu stehen kommt, ist ein kleiner Halter angebracht, in den ein kleines, 8 × 15 cm messendes Pappschild eingefügt werden kann, das im obern Teile, der linken Ecke zu, mit einer kleinen Öffnung versehen ist.

Auf die andern, an der Fufsplatte des ganzen Apparats angebrachten Halter stützt sich eine dickwandige Röhre, deren

innerer Durchmesser ca. 3 mm beträgt, und die zweimal im rechten Winkel mit abgerundeten Ecken umgebogen ist.

Unmittelbar an ihrem Ende, das dazu bestimmt ist, mit dem Gefäfse in Verbindung zu treten, findet sich ein einfacher Glashahn, überdies zwei Nüsse zur Aufnahme der unteren Enden von zwei graduierten Büretten. Dieser ganze Teil des Apparats fällt nach dem Boden des Gefäfses hin sehr leicht ab.

Die beiden Büretten stehen mit der soeben beschriebenen horizontalen Röhre vermittelst zweier zweckentsprechend ausgedachter, spezieller Hähne in Verbindung, die für das stete Verbundenbleiben des Gefäfses mit den Büretten bürgen, welches auch immer die Stellung dieser letzteren sein mag.

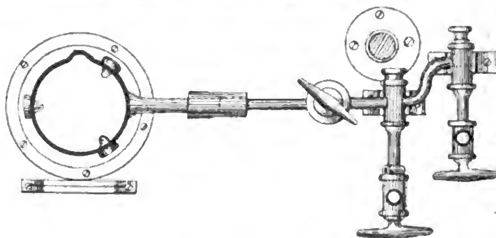


Fig. 2. Oberansicht des Apparates.

Unter dem letzten Teilungsstrich der Büretten finden sich zwei Hähnchen mit feinster Öffnung; das an der Bürette geringeren Durchmessers angebrachte kann infolge zweier Vorlegestücke nur bis zu einem bestimmten Mafse geöffnet werden.

Jeder zu den Nüssen der horizontal liegenden Röhre gehörende Hahn hat einen gewöhnlichen, längs des Durchmessers laufenden Kanal; senkrecht zu diesem Kanal und längs der Achse läuft ein zweiter, welcher den ersten Kanal mit der Bürette in Verbindung setzt. Überdies findet sich am Glashahn eine die beiden Mündungen des ersten Kanals verbindende kreisförmige Furche.

Wie schon angedeutet, bleibt durch diese Vorrichtung die Verbindung zwischen der horizontalen Röhre und den gra-

duierten Büretten stets aufrecht erhalten, welches auch immer die Inklination der letzteren sein mag.

Die Umbiegungen der horizontalen Röhre sind derart berechnet, dafs die Bewegung der Büretten freibleibt, wie dies für die Funktion des Apparates erforderlich ist.

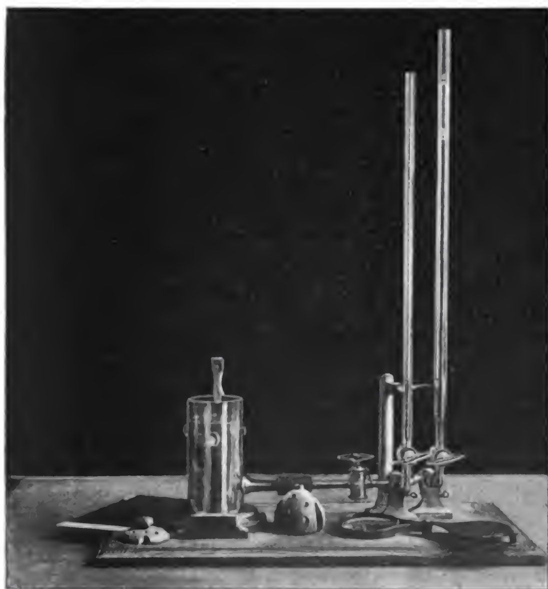


Fig. 3. Gesamtansicht des Apparates.

Ein säulenartiges Gestell, das an die Fufsplatte befestigt ist, hat auf erforderlicher Höhe zwei mit kleinen Federn versehene Ausleger, die dazu dienen, die Büretten zu fassen und sie in vertikaler Stellung festzuhalten. Besagte Büretten sind nicht gleich stark; die eine, ca. 20 ccm fassende, hat doppelte Einteilung in

Kubikzentimeter und $^1/_{10}$ ccm, die andere, nur 2 ccm haltende, ist in $^1/_{100}$ ccm eingeteilt. In der Gröfseren bewegt sich ein gewöhnlicher Schwimmer, der infolge seines besonderen Baues die Ablesung der Höhe genauer werden läfst.

Gebrauchsanweisung für den Apparat.

Man giefst in das Gefäfs eine bestimmte Quantität Quecksilber (eine kurze Übung mit dem Apparat wird genügen, darzutun, wieviel von der Flüssigkeit je nach dem Volumen des zu prüfenden Stücks passend eingegossen werden soll), und läfst dasselbe bis zur Füllung der Büretten zufliefsen. Sollte sich ausnahmsweise an einem Punkte der Kanälchen ein Luftbläschen bilden, so ist es leicht, bei etwas Aufmerksamkeit dasselbe zu vermeiden.

Daraufhin werden die beiden Hähne der Büretten geschlossen und letztere selbst in eine zu den beschriebenen Auslegern vertikale Lage gebracht. In die weitere Bürette wird der zur Ablesung bestimmte Schwimmer nur dann eingeführt, wenn betreffende Bürette funktionieren soll.

Ist das Probestück dann in das Gefäfs eingeführt, so hält man es mit dem eigens dazu verfertigten Deckelchen vollständig unter Quecksilber. Dieses Deckelchen wird durch die Dichtigkeit des Quecksilbers gegen die Glasspitzen festgedrängt, an denen der Deckel, dank seiner Randausbuchtungen, beim Niedergehen durchgekommen war.

Im allgemeinen (d. h. wenn es sich nicht darum handelt, ganz kleine Stückchen zu prüfen) läfst man aus der grofsen Bürette eine gewisse Quantität ausfliefsen, und zwar so lange, bis die Spitze ca. 1 mm vom Quecksilberspiegel entfernt zu stehen kommt; dann läfst man noch weiter ausfliefsen, bis der Schwimmer mit voller Genauigkeit mit dem unmittelbar darunterstehenden Teilungsstrich der Bürette zusammenfällt.

In diesem Moment wird der Hahn der weiteren Röhre geschlossen und der der engeren geöffnet, und nun läfst man hieraus langsam ablaufen, bis die Spitze und der Spiegel des Queck-

silbers in Berührung kommen. Diese letzte Lesung kann der Genauigkeit halber wiederholt werden.

Es wird nun der Stand der beiden Büretten abgelesen und addiert, sodann der Deckel abgenommen, das Prüfungsstück herausgeholt, wonach der Experimentierende nach neuerlicher Eintauchung des Deckels in vorbesagter Weise eine neue Ablesung vornimmt und zuletzt wiederum die beiden Teilergebnisse summiert.

Der Unterschied zwischen der ersten und der zweiten Zahl gibt ohne weiteres in ccm, in $^1/_{10}$ ccm und in $^1/_{100}$ ccm das scheinbare Volumen des Stückes.

Zur Volumenbestimmung kleinster Stücke wird die Operation nur mit der kleinkalibrigen Bürette vorgenommen, die andern Ausführungseinzelheiten bleiben ganz und gar dieselben.

In diesem Falle kommt das kleinere, stärker gewölbte Ebenholzdeckelchen zur Verwendung, wodurch das Austreten der Materialstücke vermieden und an Quecksilber gespart wird.

Theorie des Apparates.

Unter den verschiedenen Aufgaben, die sich uns stellten, und die wir nachstehend vorbringen werden, befand sich vor allem diese, einen Apparat zu schaffen, der es ermöglichte, ein fortwährend gleiches Untertauchen der die Probe haltenden Vorrichtung zu haben, und dies sowohl bei der Ablesung mit untergetauchtem Stück wie auch ohne dasselbe.

Zahlreiche Erfahrungen mit verschiedenartigen Vorrichtungen, die am Glasrande angebracht wurden (und somit teilweises Eintauchen in die Flüssigkeit bedingten), brachten uns zur Überzeugung, dafs derartige Apparate trotz sorgfältigster Konstruktion und trotz Verwendung aller technischen Geschicklichkeit bei nachfolgenden Lesungen veränderte Stellung einnehmen konnten, was allerdings nur zu sehr geringen Unterschieden führte, die aber, dank der Empfindsamkeit unseres Apparats, für die Volumenveränderung eingetauchter Körper von demselben stets angezeigt wurden. Nach in verschiedenem Sinne angestellten Versuchen

nahmen wir unsere Zuflucht zu einem nach unserer Ansicht einfacheren System, zu einer Festhaltevorrichtung bei vollständigem Eintauchen in das Quecksilber, wodurch also der genannte Fehler bei beliebiger Stellung der Vorrichtung in der Flüssigkeit absolut zum Ausfall kam, eben weil das Volumen der Festhaltevorrichtung unveränderlich war.

Was dann die Spitze des Glasstäbchens anbetrifft, so ist sie, da sie mit dem Gefäfs aufs festeste verbunden, bei den verschiedenen Bestimmungen durchaus keiner Veränderung fähig.

Der Moment der Berührung zwischen Spitze und Quecksilber wird direkt beobachtet, ohne Zwischenstellung der Glaswand zwischen Auge und beobachtetem Punkt, infolge zweckmäfsiger Höhe der Gefäfswand, die derart ist, dafs sie mit aller Bequemlichkeit das sichtliche Erfassen der Berührung über dem Rand des Gefäfses gestattet. Überdies ist die Gleichheit der Bedingungen bei jeder Ablesung dadurch garantiert, dafs die betreffende Beobachtung durch ein im Pappschirm angebrachtes Löchchen stattfindet. Um nun diese Beobachtungen einer absoluten Genauigkeit möglichst nahe zu bringen, wurde dazu stets ein Vergröfserungsglas verwendet, das an dem Glas mittels eines gabelförmigen Gestells und einer Druckschraube an das Gefäfs festgefügt werden kann und mit Hilfe eines biegsamen Armes beweglich bleibt.

Die Gröfsenverhältnisse des Gefäfses wurden derart berechnet, dafs auch mit einem grofsen Fehler in der Festsetzung des Kontakts zwischen Spitze und Quecksilberfläche (ein Fehler von $^1/_{10}$ mm), dieser bei Ablesung einundeinhalbes Hundertstel ccm nicht überschreiten kann.

Will man zu genauen Ergebnissen gelangen, so ist auch eine zweckmäfsige Erleuchtung des Apparats erforderlich, und zwar mit gleichmäfsigem, diffusem Licht, und das besonders auf dem Quecksilberspiegel, damit der Moment der Berührung zwischen Spitze und Quecksilber genau festgesetzt werden kann. Zuweilen unterliefen uns Fehler infolge eines zu raschen Ablaufens des Quecksilbers aus den Büretten, Fehler, die leicht zu verstehen sind, insofern, als die zum Schliefsen des

Hahnes nötige Zeit unter solchen Umständen ein noch weiteres Ausfliefsen der Flüssigkeit zuliefs, nach dem Zeitpunkt also, in dem das Auge uns schon von dem Kontakt in Kenntnis gesetzt hatte. Zur Ausschiebung auch dieser Fehlerquelle beschränkten wir die Öffnungsmöglichkeit des Hahnes der kleinen Bürette, und um nun hierin auch das stete Gleichmafs der Bedingungen vorzufinden, brachten wir, wie beschrieben, zwei Vorlegestücke an, bis zu welchen der Hahn bei jeder Bestimmung gedreht werden mufste.

Die Ablesung des jedesmaligen Standes der Flüssigkeit in der grofsen Bürette geschieht mittels eines Schwimmers, der einen feinen, kreisförmigen Teilungsstrich trägt; wurde bei Lesung dieser Bürette ein Fehler begangen, der $^1/_{10}$ mm Höhe erreicht, so würde dies einem Volumenfehler von 5 cmm entsprechen.

Anderseits kann man nicht a priori annehmen, dafs die Kurvendifferenz in dem Meniskus des Quecksilbers zu einer Fehlerquelle werden kann, dadurch dafs er auf die Lage des Schwimmers einwirkt, eben weil das Ablesen stets nach mehr oder weniger starkem Sinken des Quecksilbers in der Bürette erfolgte, wobei stets derselbe Meniskus vorhanden ist.

Mit diesen Betrachtungen stimmen die aus einer ganzen Reihe von Beobachtungen erhaltenen Zahlen überein, Beobachtungen, bei denen jeder andere Teil des Apparats unbeweglich blieb, was eben nur den Zweck hatte, den Fehler in der Ablesung an der grofsen Bürette zu bewerten.

Hinsichtlich des Flüssigkeitsstandes der kleineren Bürette kann angesichts des geringen Durchmessers der Bürette in der Ablesung kein bemerkenswerter Fehler auftreten. Bei den von uns ausgeführten Proben mit feststehendem Gefäfs und Festhaltgestell und verschiedenem Stand in den beiden Büretten ergaben sich nie 5 cmm übersteigende Unterschiede.

Daran denken zu wollen, dafs Ausdehnung des Quecksilbers infolge Temperaturveränderung Anlafs zu Fehlern geben könne, dafür liegt keine Berechtigung vor, denn die beiden zur Bestimmung nötigen Ablesungen erfolgen zu rasch hintereinander, und

der gröfseren Sicherheit wegen ist überdies das vorbeschriebene Schild zwischen dem Experimentierenden und dem Gefäfs angebracht, wodurch eine eventuell von diesem ausgehende Wärme abgehalten wird.

Es könnte nun noch auf eine andere Fehlerquelle hingewiesen werden, nämlich auf die Kapillarität oder besser, die Depression des Quecksilbers. Die Ablesungen finden jedoch immer mit dem Quecksilber statt, das allmählich in die Röhren absteigt, und so könnte also dieser Fehler nicht bedeutend sein. Nehmen wir auch den Fall an, dafs er aus ganz besonderen Gründen vorkommen könne, so würde er doch angesichts der Diameterverhältnisse zwischen dem Gefäfs und den Büretten nur winzig klein sein und ganz und gar übergegangen werden können.

Schliefslich kommen wir auf die Natur der von uns zur Immersion verwendeten Flüssigkeit selbst zu sprechen und können da feststellen, dafs das Quecksilber sich zweifellos nicht nur zur Bestimmung aller Baumaterialien vorzüglich eignet (und das ist unser besonderer Zweck), sondern auch zur Determination sehr vieler anderer fester Körper dienen kann, denn ausgenommen davon sind nur alle jene Materien, die mit ihm Verbindungen oder Mischungen eingehen, wie z. B. das Kupfer, das Gold, das Silber.

Nichts berechtigt uns zu der Annahme, dafs die besagten Mindestfehler sich summieren oder sich gegenseitig ausschalten; was wir indes behaupten können, ist, dafs nach zahlreichen Proben niemals ein Fehler hervortrat, der sich auf mehr als 1 ccm belaufen hätte.

Dieser analytisch berechnete und experimentell nachgewiesene Gesamtfehler bleibt konstant, welches auch immer die Dimensionen des zu prüfenden Materials sein mögen. Je gröfser somit das scheinbare Volumen des Probestückes ist, desto geringfügiger wird der Fehler sein.

In der Absicht, die uns von diesem Apparat gelieferten Angaben zu prüfen, haben wir unsere Zuflucht zu verschiedenen Versuchen genommen. Damit wir nun unter Verhältnissen arbeiten konnten, die uns erlaubten, zuverlässige Vergleiche anzustellen mit dem Piknometer, der nach unserer Ansicht zu Vergleichen der am genauesten arbeitende Apparat ist, handelte es sich vor allem darum, ein Material zu verwenden, das auch bis in die kleinsten Stückchen möglichst homogen war. Auf diese Weise gelang es uns mit Hilfe der Kombination verschiedener Stücke, gleiche oder sehr naheliegende Bestimmungen bezüglich des spezifischen Gewichts zu erhalten. Wir zogen demgemäfs das Glas zu unseren Versuchen heran, und zwar teilweise in Gestalt von kleinen, zylindrischen Stäbchen und sehr unregelmäfsigen Stücken, die durch Zerbrechung 10 mm dicken Krystalls erhalten worden waren.

Diese Versuche, deren Einzelheiten wir der Kürze halber übergehen, haben uns stets äufserst zufriedenstellende Ergebnisse geliefert, die uns zu nachstehenden Folgerungen berechtigen:

1. Die mit der Quecksilbermethode erhaltenen Volumen weisen eine relative Proportion zu dem absoluten Gewicht der Versuchsstücke auf, und dieses Resultat wird deutlicher erreicht als mit dem Piknometer.
2. Ist in der Zahl des absoluten Gewichts eine bestimmte Grenze überschritten (ca. 4 g), so bleibt mit dem darauffolgenden Anwachsen desselben das von dem Quecksilber gegebene scheinbare Volumen immer unter dem vom Piknometer gegebenen.
3. Die mit unserem Apparat bewerteten spezifischen Gewichte in Verbindung mit den schon angeführten Verschiedenheiten im scheinbaren Volumen resultieren stets höher als die von dem Piknometer unter gleichen Verhältnissen gemessenen;
4. der Unterschied zwischen den mit der Quecksilbermethode erhaltenen spezifischen Gewichten ist, laut vorgenommenem Vergleich, bei einer bestimmten Grenze des absoluten Ge-

wichts beginnend (2 g), niemals höher als $^{2}/_{100}$ ccm, während unter den vom Piknometer gelieferten Werten der Unterschied zuweilen bis zu $^{1}/_{10}$ ccm ansteigt;

5. der Unterschied ist beim Piknometer noch viel bedeutender, wenn die Stücke sehr klein sind.

Dafs nur der Piknometer bei relativ kleinvolumigen Materialien und bei denen von verhältnismäfsig grofsem Volumen weniger genaue Messungen liefert, läfst sich unschwer begreifen, wenn man berücksichtigt, dafs im ersten Falle die der Methode anhaftenden Fehler von nicht zu unterschätzender Bedeutung sind, da sie doch auf ein kleines Volumen verteilt sind (so erhielten wir mit einem kleinen, von einem Stäbchen abgeschnittenen, 0,1436 g wiegenden Stück Glas, welch' ersteres ein spezifisches Gewicht von ungefähr 2,65 aufwies, ein spezifisches Gewicht von 3,4430). Im zweiten Fall vermehrt sich die Existenzmöglichkeit von Fehlern infolge kleiner, dem Material anhaftender Luftbläschen, infolge der Umständlichkeit, das Gefäfs gut zu schliefsen und vor allem infolge der Schwierigkeit, die Dichtigkeit des Wassers auf 4° zu bringen.

Mit einer zweiten Versuchsreihe haben wir uns vorgenommen, auszuforschen, ob mit unregelmäfsig geformtem Material bei Bestimmungen mit einem einzigen Stück oder bei zu summierenden Teilbestimmungen infolge von Lufteinschlufs oder nicht vollständigem Kontakt des Quecksilbers mit den verschiedenen Oberflächen der Versuchsstücke ein Fehler vorgefunden werden könne. Überdies experimentierten wir mehrere Male mit denselben Stücken, indem wir sie dabei verschiedene Stellungen einnehmen liefsen. Die so nach zahlreichen Prüfungen erhaltenen Ergebnisse waren jeder Verschiedenheit bar.

Es sei an dieser Stelle noch darauf hingewiesen, dafs bei Bestimmungen mit Quantitäten von Stücken, deren spezifisches Einzelgewicht vorher festgestellt worden war, wir stets eine Ziffer erhielten, die der Durchschnittszahl der Einzelbestimmungen entsprach.

Auf Grund unserer Untersuchungen glauben wir also zu nachfolgenden Schlüssen berechtigt zu sein, die besagen:

Der vorgeschlagene und ausgeprüfte Apparat arbeitet bis auf $^1/_{10}$ ccm mit absoluter Genauigkeit, bis auf $^1/_{100}$ ccm mit relativer Genauigkeit, wobei jedoch niemals $^2/_{100}$ ccm übersteigende Fehler vorkommen.

Die Handhabuug des Apparats ist einfach, zeitersparend und verlangt keine lange Vorübung von seiten des Experimentierenden.

Jede beliebige Materialprobe kann mit diesem Apparat gemessen werden, ohne vorher einer Vorbehandlung unterliegen zu müssen.

Jede Lesung findet ist bei diesem Apparat direkt statt ohne Zuhilfenahme besonderer Korrektionsvorrichtungen und ist also äufserst einfach.

Zur Berechnung des spezifischen Gewichts ist auf der Wage nur eine einmalige Gewichtsmessung der Materialproben vorzunehmen.

Was nun nach unserer Ansicht dem Apparat den gröfsten Wert verleiht, ist die Tatsache, dafs man auch mit Stücken grösseren Volumens eine bis auf $^1/_{100}$ ccm gehende Genauigkeit erhält, was eben beim Piknometer nicht der Fall ist.

Über Anpassung und Vererbung bei Bakterien.

Zugleich ein Beitrag zur Aerobiose anaerober Bakterien.[1]

I. Mitteilung.

Von

R. Grafsberger.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Wien.)

Die Gesetze der Anpassung und Vererbung sind bereits mehrfach auch bei Bakterien verfolgt worden. Meist handelte es sich wohl bei solchen Arbeiten mehr um Übertragungen der an höheren Organismen gewonnenen Erfahrungen auf die Beobachtungen, soweit sie bisher in der umfangreichen bakteriologischen Literatur vorliegen, oder um Berücksichtigung einzelner spezieller, biologisch interessanter Details, seltener um eine ausreichend vollständige Analyse der an einer bestimmten Bakterienart im Verlaufe der Züchtung auftretenden Erscheinungen.

Und doch laden gerade die hier bestehenden Verhältnisse zu einem ähnlichen züchterischen Spezialstudium ein, wie es vielfach mit Geduld und Ausdauer von Züchtern in der höheren Organismenwelt versucht worden ist. Einfache Formen, ein anscheinend überaus einfacher Mechanismus der Fortpflanzung, die Möglichkeit, die Organismen zu züchten und in verhältnismäfsig kurzer Zeit eine grofse Zahl von Generationen zu erhalten, schaffen günstige Vorbedingungen.

---

1) Vortrag, gehalten in der morphologisch-physiologischen Gesellschaft in Wien am 14. März 1905.

Hierzu kommt noch die Gelegenheit, die gleichzeitig oder neben den Veränderungen der Formen vor sich gehenden Änderungen des Chemismus zu studieren.

Freilich eignet sich für solche Studien nicht jede Bakterienart. Wir werden von solchen Bakterien, die bei den verschiedenen Einwirkungen natürlich oder künstlich geänderter Lebensbedingungen morphologisch bzw. biologisch träge reagieren, deren Ausschläge sich z. B. in bezug auf den Chemismus in dem wechselnden Erscheinen oder Ausbleiben schwierig zu isolierender oder nur in geringer Quantität nachweisbarer charakteristischer Stoffe äufsern, kaum viel zu erwarten haben.

Viel eher werden uns solche Bakterien Dienste leisten, die überaus empfindlich, auf jeden Reiz mit sozusagen übertriebenen Ausschlägen reagieren, Bakterien, welche, etwa als Gärungserreger grofse Quantitäten gut charakterisierter Stoffe ausscheiden.

Handelt es sich weiters um verhältnismäfsig grofse Bakterien, denen wir mit unseren üblichen mikroskopischen Hilfsmitteln in das Innere der Zelle hineinsehen können, deren wechselnde Zustände durch die unter geeigneten Bedingungen vor sich gehende Bildung von Dauerformen — Sporen — in bequemer Weise konserviert werden können, dann scheinen allerdings diese günstigen Vorbedingungen zusammenzutreffen.

Derart liegen die Dinge nun bei einer Anzahl jener anaeroben Bakterien, die insbesonders wegen ihrer menschen- und tierpathogenen Eigenschaften andauernd das Interesse der Bakteriologen fesseln.

Die Schwierigkeiten der Züchtung, welche vor allem darin liegen, dafs die genannten Bakterien in ihrem vegetativen Zustand eine überaus grofse Empfindlichkeit gegenüber dem freien Sauerstoff zeigen, bieten bei dem heutigen Stand der Technik eher einen Reiz als eine Verlegenheit.

Die nachfolgend mitgeteilten Erfahrungen beziehen sich im wesentlichen auf den »anaeroben Rauschbrandbazillus«, den vor längerer Zeit entdeckten Erreger des Rauschbrandes, einer Tier-

seuche, die seit mehreren Jahren der Gegenstand eingehender Untersuchungen von Schattenfroh und mir ist:

Im Interesse des Zusammenhanges sei es gestattet, unsere bisherigen Ergebnisse kurz wiederholend zusammenzufassen.

Ich will vorausschicken, dafs wir im rauschbrandkranken Tier unsere Stäbchen in verschieden virulentem Zustand antreffen. Gerade die virulentesten Rassen sind verhältnismäfsig schwer züchtbar. Wir haben grofse Mühe, sie an unsere üblichen Nährböden anzupassen, und anderseits zeigt uns eine Betrachtung der primär aus dem Originalsaft erhaltenen Kolonien, dafs bei diesem ersten Versuche die Stäbchen durch sehr charakteristische Gestaltsveränderungen die schwierige Anpassung verraten.

Zunächst verweise ich auf das Bild (s. Bd. 48, T. XI, Nr. 66), welches unsere Stäbchen häufig zeigen, wenn wir einen Tropfen Rauschbrandsaft auf ein Deckglas streichen und mit Gentianaviolett färben.

Wir treffen hier eine Anzahl von mäfsig grofsen Stäbchen, sie liegen gewöhnlich zu weit, manche von ihnen zeigen eine Differenzierung. Oben im Bilde zeigt sich eine Kette von vier auffallend dicken Exemplaren.

Um diese Stäbchen zu züchten, geben wir einen Tropfen des Saftes in eine unserer verflüssigten Gallerten (Agar oder Gelatine), mischen und giefsen in eine sog. Petrischale, wobei wir zweckmäfsigerweise, um die Anpassung zu erleichtern, kleine Stückchen sterilen Rindermuskels — den die Sttäbchen von früher her kennen — mit einschliefsen, wir lassen erstarren und geben die Schalen unter anaeroben Verschlufs, am besten so hergestellt, dafs wir aus dem Aufbewahrungsraum die Luft durch einen kräftigen Strom von reinem H. vertreiben.

Nach 24 Stunden (s. Bd. 48, T. VI, Nr. 31) zeigen sich in der Umgebung des wachstumbefördernden Rindermuskels stecknadelkopfgrofse primäre Kolonien.

Fertigen wir von solchen Kolonien Präparate an, so zeigt sich ein auffälliges Bild.

Wir sehen statt oder neben den früher gesehenen regelmäfsig geformten Stäbchen eine grofse Zahl spindelförmig oder kolben-

förmig geschwollener Gebilde, welche die Färbung mit Gentiana schlecht annehmen.

Es handelt sich hier nicht etwa um in gewöhnlicher Weise degenerativ veränderte Individuen, wie wir sie oft in unseren alten Bakterienkulturen antreffen, um die bekannten Absterbeerscheinungen (Alterserscheinung der Kultur), sondern um einen ganz spezifisch degenerativen Prozefs (s. Bd. 48, T. II, Nr. 9).

Die Behandlung eines solchen Präparates mit Lugolscher Lösung gibt uns sofort die Richtung an, in der sich unsere Nachforschungen zu bewegen haben. Es zeigt sich, dafs bei dieser Behandlung die Individuen fast entsprechend der Abweichung ihrer Form vom normalen Typus, sich mit Jod intensiv braun bis schwarzviolett färben.

Es handelt sich demnach um eine Degeneration, die durch das diffuse Auftreten einer mit Jod färbbaren Substanz — wir nennen sie schlechtweg Granulose — ausgezeichnet ist. Diese Zellen sind oft so schwer erkrankt, so hinfällig, dafs alle Versuche, die Kolonien auf die üblichen bakteriologischen Nährböden (flüssige und Gallerten) zu übertragen, fehlschlagen, indem sie die bei der Übertragung unvermeidlichen Schädigungen nicht überstehen.

Gelingt die Übertragung, dann sind wir in der Lage, den eben besprochenen Prozefs der Einlagerung der Granulose genauer zu verfolgen.

Übertragen wir von solchen oder anderen primären Kolonien in zuckerhaltige, mit Kreide versehene flüssige Nährböden, so tritt nach wenigen Stunden stürmische Gärung ein (Buttersäuregärung). Dabei zeigen die meisten Individuen das typische Verhalten jener Bakterien, welche als überall verbreitete (Boden, Darm etc.), anaerobe Buttersäuregärungserreger bekannt sind (vgl. Bd. 42, T. V u. Bd. 48, T. II).

Wir sehen bei Färbung mit Gentianaviolett den färbbaren Teil der Zellen an das eine Ende gerückt, während der übrige Teil der Zelle bei mehr minder starker Anschwellung blafs gefärbt erscheint.

Jodfärbung zeigt sofort, dafs hier grofse Mengen von Granulose eingelagert sind. Es handelt sich um ein altbekanntes Phänomen, welches solche typische Buttersäurebakterien zeigen, wenn sie bei Gegenwart von Zucker versporen. Sie bilden Klostridien.

Die Zellen befinden sich im Stadium der Sporenanlage. Im weiteren Verlaufe kommt es bei einem Teil der Zellen zur Entwicklung der reifen Spore, die entweder endständig bleibt oder vor dem Zerfall der Zelle mehr gegen die Mitte rückt.

Ein grofser Teil der Zellen aber kommt nicht zur Sporenreife, sie füllen sich vollständig mit Granulose und verfallen dem Untergang.

Die Sporen aus solchen Gärkolben fixieren jenen Zustand, den wir als den typischen Buttersäurebakterien zukommend beschrieben haben.

Es erhebt sich nun sofort die Frage, ob wir den eben geschilderten Prozefs, Versporung mit intermediärem Auftreten von Granulose, im Sinne des Auftretens beträchtlicher Mengen einer Reservesubstanz etwa als Zeichen eines Fortschrittes zu einer höheren Organisation begrüfsen dürfen. Die Frage ist verschieden gedeutet worden. Zugunsten der eben geäufserten Auffassung — man hat geradezu von einem Granuloseorgan gesprochen — läfst sich anführen, dafs der Prozefs sich häufig im Rahmen einer gewissen unverkennbaren Regelmäfsigkeit vollzieht, dafs ferner in der Tat wenigstens eine Anzahl der Zellen je eine normale, ziemlich grofse Spore entwickelt.

Man kann aber anderseits darauf hinweisen, dafs stets erhebliche Mengen von Zellen vorzeitig zugrunde gehen, dafs weiters bei künstlicher Übertreibung des Prozesses zweifellos biologisch wertlose, sterile Sporen erzeugt werden (s. Bd. 42, T. V, Nr. 5, 6; Bd. 48, T. II u. III, Nr. 12 u. 13).

Es gelingt leicht, bei passender Auswahl der zur Züchtung verwendeten Rassen und passender Wahl des Nährbodens, die Zellen so zu beeinflussen, dafs sie auch in die Sporenanlage je ein Granulosekorn einschliefsen.

Es kommt dann im Anschlufs zum Freiwerden von Sporen, die lebhaft glänzen und ebenso wie normale Sporen sich mit Gentianaviolett nicht färben, wohl aber mit Jod ein deutlich abgegrenztes Granulosekorn im Innern erkennen lassen. Aber diese Sporen keimen, auf Nährböden gleicher oder anderer Zusammensetzung gebracht, nicht aus, sie sind, biologisch betrachtet, wertlos.

Ja, überträgt man besonders schwer anzupassende primäre Kolonien des Rauschbrandbazillus unter Verwendung geeigneter Hilfssubstanzen (steriler Rindermuskel) in Kolben mit Zuckerbouillon und Kreide, so sehen wir zwar wieder (s. Bd. 48, T. II, Nr. 8) stürmische Entwicklung mit energischer Gärung, die Spaltung der Zellen geht ungemein rasch vor sich, eine Anzahl von Nachkommen lenkt in Versporung, die Granulose füllt aber bald das ganze Stäbchen aus und dieses geht vorzeitig zugrunde. Diese Gärkolben bieten mitunter das Bild lebhaft gärender Flüssigkeiten, mit reichlicher Gegenwart von Zellen, doch jeder Versuch einer Übertragung vom gärenden Inhalt, selbst auf Gärflüssigkeiten derselben Zusammensetzung (5 ccm), schlägt fehl. Es ist dies ein Experiment, das uns wichtige Anhaltspunkte gibt für die Beurteilung so vieler mifslingender Versuche, aus manchen Spontangärungen die Erreger auf kurzem Wege zu züchten. Trotz reichlicher Vermehrung und auffälliger Gärung sind die Organismen schlecht angepafst und gehen bei neuerlichem Nährbodenwechsel ausnahmslos zugrunde.

Auch Bejeringk erwähnt solche Bakterien, die nur einmal gären und nicht wieder.

Man braucht nun nur noch hinzuzufügen, dafs gelegentlich ruhende Formen anderer Bakterien, die in solchen Spontangärungen enthalten sind, bei Neuübertragung und Ausschaltung der eigentlichen Erreger zur Entwicklung kommen, oder dafs die eigentlichen Erreger, wenn ihre Anpassung bei Neuübertragung gelingt, Form und Chemismus ändern, um einzusehen, dafs hier in der Tat eine Quelle von Mifsverständnissen vorliegt, die geeignet sind, in unsere Literatur der Gärungserreger Zwie-

tracht und Unfrieden zu säen, was auch in der Tat in hohem Mafse der Fall ist.

Nur die strengste Kritik, und das immer wiederholte Ausgehen von Sporenreinmaterial kann hier Aufklärung schaffen.

Ein anderer Weg, um über den Prozefs der Granuloseeinlagerung Aufschlufs zu gewinnen, ist der, dafs man sich die Frage stellt, ob das Auftreten dieser Substanz für die Versporung dieser Bakterien nötig ist. Man kann sehr leicht zeigen, dafs dies keineswegs der Fall ist, dafs diese Bakterien auch ohne Granuloseaufspeicherung versporen können.

Durch Wahl eines geeigneten Nährbodens, der keine gröfseren Mengen von Kohlehydraten enthält (steriler Rindermuskel), und Anwendung eines altbekannten Kunstgriffes gelingt dies nach folgendem Rezept:

Auswahl sporulierender Rassen, Übertragung auf sterilen Rindermuskel — sobald die ersten Sporen gebildet, wird vorsichtig pasteurisiert — die Stäbchen und minderwertigen Sporen gehen zugrunde, Übertragung auf Rindermuskel — neuerlich Versporung — neuerlich Pasteurisierung — nach ungefähr 6—7 maliger Wiederholung bekommt man nun Sporen, die folgende Eigenart zeigen. Sie keimen aus, die Stäbchen teilen sich und lenken bald, nahezu gleichzeitig in eine überaus gleichartige und regelmäfsige verlaufende Versporung. An einem Ende sitzt die Sporenanlage, das Stäbchen ist dabei mäfsig und ziemlich gleichmäfsig vergröfsert, Granulose fehlt oder tritt nur vorübergehend in Spuren auf (s. Bd. 48, T. I, Nr. 4, 5, 6).

Wenige Stunden nach diesem Vorstadium rückt die Spore wie auf Kommando in die Mitte, wobei gleichzeitig Glanz und das ablehnende Verhalten gegenüber Gentianaviolett auftreten. Die reifen Sporen, auf frischen Nährboden gebracht, keimen oft fast ausnahmslos aus.

Wir haben nun durch geeignete Züchtung bei einer Bakterienart zweierlei verschiedene Versporungsformen hervorgerufen. Zwischen beiden gibt es Übergänge und ein Heer von Zellen, die in frühem oder spätem Stadium der Versporung vorzeitig verunglücken. Die Übergänge und die Mifsbildungen sind so

häufig, dafs wir sogar besondere Bedingungen einhalten müssen, um sie auszuschliefsen. Derartiges kommt bei vielen anderen Bakterienarten vor.

Ich verweise hier auf die eigentümliche Form der Versporung, wie wir sie so oft beim Ödembazillus unter dem Einflufs von Zucker verlaufen sehen. Es werden hier (s. Bd. 48, T. VII, Nr. 39 u. 40) in einem Stäbchen (Doppelstäbchen mit ausgebliebener Trennung der Individuen) zwei Sporenanlagen gebildet, von denen in der Regel eine (oft auch beide) verkümmert. Die betreffenden Bilder erinnern an bipolar gefärbte Stäbchen, wie wir sie bei manchen, nicht sporulierenden Bakterienarten antreffen. Es mag sich hier vielleicht manchmal in der Tat um mifslungene Ansätze zur Versporung handeln.

Wir müssen alle die genannten abnormen Versporungsfälle genau kennen, wenn wir z. B. den Vorgang der normalen Versporung studieren. Ein Gesichtsfeld solcher sporulierender Bakterien ist oft einem Schlachtfeld, reich an Krüppeln und Leichen, zu vergleichen. Es liegt nun die Gefahr nahe, dafs solche Morphologen, die in ihren Kulturen immer nur auf die Art und nicht auf die Individuen Rücksicht nehmen, absammeln gehen, sie nehmen, indem sie aus dem Nebeneinander ohne weiteres auf das Nacheinander schliefsen, von der einen Zelle ein Körnchen, von der anderen ein Fäserchen, und konstruieren so ein überaus farben- und namenreiches Bild der normalen Versporung. In der Wirklichkeit verläuft aber die normale Versporung anscheinend unter dem Bild sehr einfacher Formen. Der bio-chemische Vorgang hierbei ist gewifs sehr kompliziert — dafür sprechen schon die häufigen Störungen im Ablauf — doch es scheint, als ob die n o r m a l e n Stäbchen ihre Geheimnisse ungern preisgeben.

Ich will allerdings nicht verschweigen, dafs unter Umständen solche überaus normale Sporen ein eigentümliches Verhalten zeigen. Die Stäbchen, die aus ihnen ausschlüpfen, vermehren sich nur einige Male, sie wenden sich lange, bevor der Nährboden auch nur halbwegs ausgenutzt ist, neuerlich zur Versporung, sie sind sozusagen übertrieben vorsichtig geworden.

Recht lehrreich sind Versuche, welche zeigen, dafs die derart gewonnenen normalen Sporen nun auch bei neuerlicher Aussaat in zuckerhaltige Nährböden, keineswegs mehr dieselbe Neigung zur übertriebenen Einlagerung von Granulose besitzen, sie sind erblich für einige Zeit von der spezifischen Degeneration zurückgestofsen bzw. geheilt.

Zu einem andern, bemerkenswerten Zustand des Rauschbrandbazillus gelangen wir, wenn wir Kulturbedingungen wählen, bei welchen eine rasche Aufeinanderfolge von Generationen ohne einfallende Versporung befördert wird.

Ich verweise zunächst ein Bild einer solchen Rauschbrandkultur, die sich am Übergang zum asporogenen Zustand befindet (s. Bd. 48, T. II, Nr. 7).

Man sieht (bei Jodfärbung) die Granulose in feinen Körnchen diffus verteilt auftreten, die Versporung bleibt aus. Mit Gentiana gefärbt zeigen diese abnormen Zellen einen sehr schönen wabigen Bau. Bei normalen Zellen sind die Wabenräume viel kleiner. Bei ganz normalen so klein, dafs man sie nicht sieht.

Man gelangt derart oft mit einem Schlage, einer einzigen Kultur zu asporogenen Rauschbrandkulturen. Mit diesem Zustand ist eine weitgehende Gestaltsänderung verbunden, die Stäbchen werden plump und, was das wesentlichste ist, während die nicht denaturierten Rauschbrandbazillen im Extrem lebhaft beweglich und peritrich begeifselt sind (s. Bd. 48, T. I, Nr. 2), sind diese asporogenen Zustände vollkommen unbeweglich, geifsellos (s. Bd. 48, T. V, Nr. 25). Dieser Zustand wird vererbt und unter Umständen zähe festgehalten.

Die Übergänge zwischen beiden Zuständen sind ungemein zahlreich, hier finden sich alle Kombinationen vor, indem nicht selten die Stäbchen bereits plumpe Gestalt besitzen, aber noch reichlich Geifsel tragen.

Der eben besprochene asporogene, geifsellose Typus ist insofern recht interessant, als auch andere Buttersäurebakterien einen derartigen Dimorphismus aufweisen. Der Erreger der häufigsten Form der menschlichen Gasphlegmone ist ein solcher

unbeweglicher Zustand eines Buttersäurebazillus, der von seinem Entdecker als eigener Bazillus isoliert und beschrieben wurde.

Man kann, allerdings nur dann, wenn dieser unbewegliche Zustand nicht durch zu häufige Aufeinanderfolge gleichartiger Züchtung fest vererbt ist, leicht Rückschläge erzielen und sieht dann wieder Sporen und Geifseln auftreten.

Auch dieser asporogene, geifsellose Typus ist streng anaerob. Passini hat eine sehr verwendbare und einfache Methode angegeben, solche asporogene Zustände wieder sporogen zu machen (Passini, Jahrbuch f. Kinderheilkunde 1903, Zeitschrift f. Hygiene 1905).

Bemerkenswerte Differenzen ergeben sich nun, nach den Beobachtungen Schattenfrohs, wenn man die in den Gärkolben gebildeten Gärprodukte analysiert, es zeigt sich, dafs im einen Extrem (bewegl. Zustand) bei der Vergärung von Zucker überwiegend Buttersäure gebildet wird, während im anderen Extrem (unbeweglicher Zustand) überwiegend Rechtsmilchsäure ausgeschieden wird. Diese Unterschiede zeigen sich nur in den Extremen ausgebildet, bei den Übergangszuständen ist oft der eine Chemismus mit den anderen Formen verbunden.

Sehr instruktive Bilder liefern nicht selten Kolonien des beweglichen Zustandes, die der Denaturierung nahestehen, wenn wir von einer solchen Kolonie in Zuckeragarstich übertragen. Es tritt ein ausgesprochener Dimorphismus auf, indem die zur Entwicklung gelangenden Stäbchen zwei Wege einschlagen, die einen bleiben dünn und beweglich, die anderen werden dick und unbeweglich (s. Bd. 48, T. X, Nr. 54).

Es wäre weit gefehlt, wenn wir etwa den früher geschilderten Chemismus des Rauschbrandbazillus, bei welchem sich dieser als typischer Kohlehydratvergärer beweist (Bildung von Buttersäure oder Rechtsmilchsäure), als den einzigen, zur Beobachtung kommenden ansehen wollten, sondern man kann leicht zeigen, dafs bei geeigneter Wahl des Nährbodens der Rauschbrandbazillus im Sinne eines Fäulnisbazillus ein energischer Eiweifszersetzer ist. Nach der gegenwärtigen Auffassung von Schattenfroh und mir ist

der Rauschbrandbazillus, so wie er sich im Tiere findet, am Übergang zwischen Fäulnis und Gärung. Lassen wir ihn in diesem Übergangszustand in geeigneten, Dextrose enthaltenden Nährböden zur Entwicklung kommen, so scheidet er seine Gifte aus. Ich will auf diesen abseits liegenden Gegenstand nicht eingehen, sondern mich auf das morphologische beschränken.

In dieser Hinsicht ist es nun bemerkenswert, dafs wir, wenn wir von primären Kolonien des Rauschbrandbazillus ausgehen und auf geeignete Nährböden übertragen (Vermeidung von Zucker), auch parallel mit dem Chemismus (Fäulnis) eine Alteration der Versporungsvorgänge beobachten können. Die Stäbchen bleiben beweglich, zart, sie entwickeln am einen Ende eine Sporenanlage, dieselbe ist aber scharf vom übrigen Stäbchen abgegrenzt, sie bleibt bei der Reife am Ende (vgl. Bd. 48, T. IX, Nr. 52).

Dieser Modus der Versporung ähnelt ganz jenem, wie wir ihn bei einem anderen typischen anaeroben Fäulnisbakterium, dem Bienstockschen Bakterium zu beobachten gewohnt sind. Auch hier gibt es reichlich während der Sporulierung Unglücksfälle.

Eine überaus oft zu beobachtende Versporungskrankheit ist die, dafs die Sporenanlagen massenhaft unreif abfallen und sie liegen dann im Gesichtsfelde wie Kokken verstreut umher.

Auch diese Zustände werden nun durch Sporulierung fixiert, erblicher Besitz, derart, dafs nun bei Übertragung in Zuckerbouillonkolben keineswegs mehr die typische Buttersäuregärung, die typische Klostridiumform zur Entwicklung gelangt, ebenso wie umgekehrt typische Klostridien, auf zuckerfreie Nährböden geimpft, zunächst noch reichlich Granulose bilden. Die weitere Verfolgung der Übergänge und Rückschläge ist derart kompliziert, dafs sie sich für eine kurze Darstellung nicht eignet.

Es bleibt uns noch eine Aufgabe zu lösen, das Verhältnis des Rauschbrandbazillus zu den aeroben Bakterien festzustellen. Die Bemühungen, streng anaerobe Bakterien in aerobe umzuwandeln, sind verhältnismäfsig recht alt. Zum Teil handelt es sich hier freilich um Beobachtungsfehler. So wurde die Tatsache, dafs bei üppiger Entwicklung von streng anaeroben

Bakterien in flüssigen Nährböden eine Übertragung gröfserer Mengen der Kultur in ausgekochte Nährflüssigkeit zum Anwachsen führt, auch wenn für Abschlufs gegenüber dem O der Luft nicht Sorge getragen wird, falsch gedeutet. Die einmal im Gang befindliche Gärung hält durch die beständige Produktion von CO_2 und anderen Gasen den Nährboden andauernd hinreichend frei von O. Man darf hier nicht von aerobem Wachstum sprechen. Andere Beobachter wieder gingen so vor, dafs sie aus Spontangärungen gleichzeitig aerobe und anaerobe Bakterien züchteten und als aerobe bzw. anaerobe Formen derselben Bakterien beschrieben.

Sie mögen hie und da Recht gehabt haben, sind aber wohl den Beweis für die richtige Anschauung schuldig geblieben, der nur durch Überführung von strengen Reinkulturen von der Anaerobiose zur Aerobiose erbracht werden kann. Auch mufs betont werden, dafs man bei der Deutung von Befunden, darin bestehend, dafs aus lange gärenden Kolben nach Wochen aerob wachsende Bakterien gezüchtet werden, sehr vorsichtig sein mufs. In solchen lange gärenden Kolben, die eventuell mehrmals geöffnet werden, kommt es doch gelegentlich zur Verunreinigung durch aerobe Bakterien. Es mufs deshalb der Wunsch ausgesprochen werden, diese sog. Umzüchtung ausschliefslich auf festen Nährböden, wo die Verhältnisse sich gut überblicken lassen, vorzunehmen. Ich möchte übrigens die Gelegenheit ergreifen, hier auf einige Erscheinungen hinzuweisen, die wir in unseren Rauschbrand-Giftkolben, die sich oft durch 14 Tage in Nachgärung befinden, feststellen konnten.

Wir verwenden als geeignete Zustände zum Impfen dieser Kolben sog. halbdenaturierte Rauschbrandbazillen. In diesen Kolben kommt es nun während der Nachgärung (wobei die zuerst ausgeschiedene Rechtsmilchsäure in Buttersäure vergoren wird) zu üppigen Zoogloeen von Fäden und Ketten, die sehr häufig ihren Rückschlag zum sporulierenden Zustand durch herdweise Einlagerung von Granulose verraten (s. Bd. 48, T. IV, Nr. 19—24).

Solche Vegetationen geben oft ganz das Bild von Leptothrixfäden[1]), sie gleichen ihnen auch darin, dafs es nicht gelingt, sie mit Erhaltung der charakteristischen Formen herauszuzüchten. Aerobe und anaerob angelegte Kulturen bleiben steril, oder es entwickeln sich charakteristische Rauschbrand-Klostridien-Kulturen, was kaum als Rückschlag der Leptothrixformen aufgefafst werden darf, sondern so gedeutet werden mufs, dafs es gelegentlich in solchen Spätgenerationen unter Zerfall der Fäden in Ketten zum Auftreten von Clostridiensporen kommt.

Solche Sporen liefern Kulturen, die brillant milchsauren Kalk unter Entstehung von buttersaurem Kalk vergären und noch eine Besonderheit zeigen. Die Kulturen, in Kalziumlaktat-Bouillon gezüchtet, zeigen stets bewegliche Stäbchen, die, bei nicht zu hoher Konzentration des Kalziumlaktat, nicht versporen und keine Granulose bilden, und diese Eigenheit, durch beliebig viele Generationen fortgezüchtet, bewahren. Trotzdem behalten sie die Neigung für diese eigentümliche Stoffwechselanomalie. Läfst man zur 10. Kulturfolge einen Tropfen steriler Dextroselösung fliefsen, so zeigen sich nach 2 Stunden massenhaft Klostridien. Trotz fehlender Gelegenheit zur Entwicklung von Klostridien, ist die Neigung zur Entstehung solcher Formen durch 10 Kulturfolgen erhalten geblieben.

Setzt man hingegen gröfser Mengen (mehrere Prozent) milchsauren Kalk hinzu, so entstehen Ketten mit mittelständigen Sporen (s. Bd. 48, T. IV, Nr. 19).

Es ist uns aber, um dies nochmals zu wiederholen, niemals gelungen, aus diesen gärenden Kolben aerobwachsende Rauschbrandkulturen zu erzielen.

Eine kurze Überlegung und Berücksichtigung der in der Literatur vorliegenden Erfahrungen läfst überhaupt vermuten, dafs gerade solche Zustände, wie sie sich bei lebhafter Gärung entwickeln, wobei in den hier in Betracht kommenden Fällen die Empfindlichkeit gegenüber dem freien Sauerstoff gesteigert

[1]) Beyerinck hat schon 1893 in seiner Arbeit über das Butylferment auf derartige Leptothrixformen von Buttersäurebakterien aufmerksam gemacht.

wird, kaum geeignet sind, zur Aerobiose überzuleiten. Man hat im Gegenteil alles zu versuchen, um energischere Gärung zu vermeiden. Weiters ist zu berücksichtigen, dafs in vielen Fällen, die mit dem Fortschreiten des Alterns der Kultur sich geltend machenden Verhältnisse — vielleicht die sich ansammelnden Zersetzungsprodukte — zu einer Schwächung der Individuen führen, welche sich — viele im früheren angeführten Beispiele belegen dies — im Sinne einer gesteigerten Empfindlichkeit bei Übertragung in neuen Nährböden äufsern.

Ein Weg, der anscheinend mit Erfolg bei einigen anaeroben Bakterienarten betreten wurde, besteht darin, dafs man die Bakterien allmählich an gröfsere Sauerstoffspannung gewöhnt. Derartige gelungene Versuche liegen für den Tetanusbazillus vor, auch beim Rauschbrandbazillus ist behauptet worden, dafs lang fortgezüchtete Laboratoriumskulturen allmählich weniger empfindlich gegenüber dem Sauerstoff werden.

Es scheint, dafs hier unter Umständen eine von Haus aus bestehende geringere Empfindlichkeit mancher frisch isolierter Bakterienrassen vorliegt. Allerdings sind die hier vorliegenden Verhältnisse noch wenig systematisch untersucht, — ich will nur anführen, dafs nach einer Literaturangabe Belfanti die Umzüchtung des Tetanusbazillus in eine aerobe Bakterienart unter Auftreten der sonderbarsten Formveränderungen beobachtet hat.

Da mir bisher die betr. Originalarbeit nicht zugänglich war, und ich mich anderseits mit entsprechenden Versuchen am Tetanusbazillus nicht beschäftigt habe, bin ich nicht imstande zu äufsern, ob die von einzelnen Autoren stark angezweifelten Befunde stichhaltig sind oder auf Täuschung beruhen. Es sei hier bemerkt, dafs bei einer anderen Gelegenheit eine kritische Übersicht über die Angaben der Literatur, soweit sie das vorliegende Thema betreffen, gegeben werden wird.

Ich kehre nun zu eigenen Versuchen, am Rauschbrandbazillus angestellt, zurück.

Meine Versuche begannen zunächst damit, stark sporulierende, hochvirulente, frisch aus Tiermaterial gezüchtete Stämme zu Ober-

flächenwachstum auf Agar zu bringen. Es ist nun keineswegs leicht, unter diesen Verhältnissen Spuren von Sauerstoff zu entfernen, bzw. fernzuhalten.

Gerade die Empfindlichkeit solcher Rassen gegenüber dem freien Sauerstoff ist aber eine ganz exorbitante. Man erlebt bei den Versuchen, diese Organismen auf der Oberfläche zum ausgiebigeren Wachstum zu bringen, sehr auffallende Befunde, die man, wie ich jetzt glaube, doch mit Recht auf den schädigenden Einflufs von Spuren freien Sauerstoffs zurückführen darf.

Ich verweise zunächst auf ein derartiges Bild einer 24 Stunden alten Kultur auf Schrägagar (s. Bd. 48, T. XI, Nr. 68 u. 69).

Man zweifelt bei diesem Anblick fast daran, dafs es sich um eine Reinkultur handelt. Kaum eine Zelle gleicht der anderen. Jede Zelle scheint ein Individuum zu sein, die glänzende Spore ist bald übertrieben grofs, bald winzig klein.

Bei genauerem Zusehen sieht man aber, dafs es sich nicht um Individuen handelt, sondern um Karikaturen, um verunglückte sporulierende Stäbchen. Das Auftreten von Karikaturen ist aber der sicherste Beweis einer mifslungenen Anpassung. Die Jodreaktion zeigt uns sofort, dafs in der Tat gerade die am meisten von der Norm abweichenden Zellen am stärksten mit Granulose beladen sind (s. auch Bd. 48, T. XI, Nr. 67 u. T. IV, Nr. 41, 42, sowie den zugehörenden Text).

In den vorerwähnten Beispielen sahen wir eine Anzahl von Bildern, die uns Mifserfolge bei dem Versuche vorführen, unsere Stäbchen dem Oberflächenwachstum anzupassen.

Ich wählte nun eine Versuchsanordnung, bei welcher trotz Oberflächenwachstum die Luft in der denkbar exaktesten Weise von den Kulturen ferngehalten wird.

Die Nährböden (Agar) werden über der freien Flamme lange ausgekocht, rasch abgekühlt, es wird ausgesät und sofort erstarren gelassen. Die Schalen werden augenblicklich in die von Schattenfroh und mir modifizierte Botkinsche Glocke gebracht und der Raum durch einen starken Strom von H rasch ausgefegt, wobei dafür gesorgt wird, dafs die Reinigung des H. so weit geht, dafs eine Vorlage, die alkalische Pyrogallollösung enthält,

nicht gebräunt wird. Unter diesen Umständen entwickeln sich nach Durchbruch der Kolonien an die Oberfläche der Gallerte zarte Rasen, die gut färbbare Stäbchen enthalten. Wir entnehmen die Schalen dem Apparat erst nach 48 Stunden, wobei für absolute Fernhaltung von O-Zutritt Vorsorge getroffen ist. Übertragen wir nun von den am weitesten vorgerückten Randpartien auf Schrägagar, so sehen wir auf diesem Nährboden, obwohl unter gewöhnlichen aeroben Verhältnissen gehalten, nach 24 Stunden auf der Oberfläche sehr zarte Tautropfenkolonien. Das mikroskopische Präparat zeigt bewegliche Stäbchen (s. Fig. 1 der vorl. Arbeit). Im Kondenswasser der senkrecht gestellten Röhrchen zeigen sich Gasblasen. Wir haben somit mit einem Schlage den Rauschbrandbazillus zu aerobem Wachstum befähigt. Durch strengste Anaerobiose und Oberflächenwachstum sind unsere Stäbchen fakultativ aerob geworden. Wie ist dies zu erklären? Hier ist von einer Angewöhnung nicht die Rede, viel eher von einer Heilung. Wir haben, indem wir den Sauerstoff durch eine Anzahl von Generationen (48 Std.) diesen überaus empfindlichen Mikroorganismen ferngehalten haben, ihre Empfindlichkeit vererbbar herabgesetzt.

Diese primäre aerobe Form schlägt in Agarstich oder Zuckeragarstich übertragen zurück in anaerobe Zustände. Es tritt sofort wieder Versporung ein, die bei dem Oberflächenwachstum ausblieb. Es entstehen schliefslich Stäbchen mit Köpfchensporen und vereinzelt dicke Stäbchen mit mittelständigen Sporen.

Die aeroben Kolonien bleiben in ihrem Wachstum beschränkt, nach 48 Stunden treten Scheinfäden auf, dann sistiert das Wachstum.

Es war nun zu untersuchen, ob sich nicht durch geeignete Züchtung auch eine unbewegliche aerobe Form des Rauschbrandbazillus gewinnen läfst. Dies gelingt in der Tat. Und zwar auf folgende Weise. Wir übertragen von solchen aeroben Kolonien auf Schräggelatine und züchten bei 22°. Das ist ein schwerer Eingriff, schroffer Nährbodenwechsel und Temperaturwechsel. Die Vegetation geht sehr langsam an. Nach 48 Stunden zeigt sich am Stich ein zarter Belag. Die Kulturen

nehmen aber tagelang an Üppigkeit zu. Bald treten diffus oder vereinzelt feinste büschelförmige Ausläufer aus, die aus Scheinfäden bestehen (vgl. Bd. 48, T. X, Nr. 62).

Impfen wir nun von solchen Gelatinekulturen neuerlich auf Schrägagar und züchten wieder bei höherer Temperatur, so wird die Neigung zum Auftreten von Scheinfäden beibehalten.

Darin besteht das Wesen der zum Fortschnitt neigenden Bakterien, dafs sie die in der Kultur erworbenen Eigenschaften (z. B. Scheinfäden) unter Umständen bei Neuübertragung beibehalten und nicht rückschlagen wie viele andereBakterien, die zwar auch in alten Kulturen Fäden bilden, bei Neuübertragungen aber in einfache Stäbchen rückschlagen.

Die früher scharfrandigen, glashellen aeroben Kolonien senden zopfig gewundene Ausläufer aus und gewinnen nach 48 Stunden das Aussehen von Kolonien aus der Milzbrandgruppe (s. Fig. 5 dieser Arbeit).

Im Kondenswasser hingegen entwickeln sich schleimig-fadenziehende krümmelige Massen.

Das mikroskopische Bild ist höchst charakteristisch (s. Fig. 6 u. 10 dieser Arbeit).

Der Rauschbrandbazillus sucht eine neue Form. Fast scheint es, als wollte er sich an der heute bei den niederen Organismen herrschenden Mode, Kunstformen zu versuchen, beteiligen, er bildet Schnörkel. Es handelt sich hier um eine schleimige Degeneration der Bewegungsorgane. Die Organismen bekommen oft Kapseln. Man beobachtet partiellen Verlust der Geifseln, asymmetrischen Bau des Plasmas und Aufdrehung der Leibessubstanzen. Das ist jedoch nur ein Übergangszustand.

Man sieht in Fig. 10 neben den Schnörkeln schon wieder einfache Linien, lange Ketten von plumpen Stäbchen mit abgestutzten Enden, Bilder, die in der Tat an Präparate aus Milzbrandagarkulturen erinnern.

Diese Ketten sind vollkommen unbeweglich, es tritt im Extrem ein Verlust der Geifseln auf.

Derartige Kolonien lassen sich nun bei Erhaltung der charakteristischen Formen auf Schrägagar unbegrenzt weiterübertragen.

Die Ahnlichkeit mit den Kolonien des Milzbrandbazillus ist aber nur eine beschränkte.

Die Vegetationen sind zwar ebenso fadenziehend, sie erreichen aber stets nur eine mäfsige Üppigkeit, sie werden niemals konfluierend, es werden niemals mittelständige Sporen gebildet, und was das wesentliche ist, sie schlagen bei geeigneter Behandlung in frühere Zustände zurück.[1])

Schon Präparate aus dem Kondenswasser, in welchen sich fadenziehende Krümmel entwickeln, zeigen den Rückschlag zur beweglichen Form, sie enthalten lange Konvolute von Schnörkeln. Die Organismen kehren aber prompt in die endständig sporulierende anaerobe Form zurück, wenn wir sie auf Agarstich übertragen und aerob aufbewahren. Nach 24 Stunden zeigen sich zartere Fäden und Ketten (s. Fig. 9), nach 48 Stunden erfolgt Zerfall in Stäbchen (s. Fig. 7). Mit Auftreten der endständigen Sporenanlage bei nochmaliger Übertragung auf Agarstich zarte Stäbchen (Fig. 4) oder Köpfchen-Sporen (in Bouillon Fig. 2), von hier oder von Agarstich zurück sofort wieder Schnörkel und Milzbrandformen.

Diese Kulturen sind derart empfindlich gegen wechselnde Reize, dafs sie sich in vorzüglicher Weise zur Anstellung von züchterischen Experimenten eignen. Es ist keineswegs für sie gleichgültig, ob der Agar trocken oder feucht ist, ob man die Röhrchen legt oder stellt, ob man Kolonien überträgt, die nahe dem Kondenswasser, oder am oberen Rande sitzen. Man kann diese Organismen, durch abwechselnde Folge von Agarstich und Strich zwischen Anpassung und Rückschlag hin und her jagen,

[1]) Bei Untersuchung einer gröfseren Zahl von Rauschbrandstämmen verschiedener Provenienz ergaben sich Verschiedenheiten hinsichtlich der mehr oder minder ausgesprochenen Schnörkelbildung der Üppigkeit der aeroben Kolonien etc. während des Übergangs der verschiedenen Zustände. Die genaueren Details sowie die Beziehungen dieser Übergangszustände zu den Spirillen und Kapselpakterien folgen in einer späteren Arbeit.

man kann sie einmal dünn und beweglich, dann dick und unbeweglich machen, in Ketten und Fäden, dann als einzelne Stäbchen erscheinen lassen, man kann sie am Übergang sich in Schnörkeln winden lassen und durch rechtzeitige Unterbrechung der wiedererscheinenden Sporulation zum Abwerfen der Sporenanlagen (s. Fig. 3) zwingen oder sie derart beeinflussen, dafs sie zwischen Rückschlag und Fortschritt zweifelnd monströse Gebilde entwickeln (s. Fig. 8), wobei wir nach Art unserer Züchter vorgehen, die mit Liebe und Grausamkeit ihre nützlichen Karrikaturen ziehen.

Meine Studien über das Verhalten dieser verschiedenen Zustände gegenüber spezifisch-agglutinierenden Seris sind noch nicht abgeschlossen, wohl aber kann ich auf eine andere biochemische Tatsache hin weisen. Als differential-diagnostisch wichtiges Mittel dient zur Untersuchung von Bakterienarten die Grammfärbung.

Hier zeigt sich nun, dafs die einen Formen gramnegativ sind, während die anderen, oft die Schnörkel und Ketten, relativ gramfest sind. An einem und demselben Faden läfst sich bei Übergangskulturen streckenweise das differente Verhalten gegenüber der Grammfärbung verfolgen.

Sind die bisher mitgeteilten Befunde geeignet, die Annahme einer näheren Verwandtschaft zwischen Milzbrandbazillus und Rauschbrandbazillus zu begründen? Sind wir mit einem Worte berechtigt, diese beiden anscheinend so grundverschiedenen Bakterienarten als verwandt zu bezeichnen? Ich habe bereits darauf hingewiesen, dafs die Ähnlichkeit, morphologisch betrachtet, eine beschränkte ist.

Versuche, den Milzbrandbazillus dem Rauschbrandbazillus zu nähern sind mir bisher nur bis zum Auftreten von Schnörkeln gelungen (welche Wuchsform ja bereits bekannt ist). Weiter will er nicht. Man kann am Ende einwenden, unter Hinweis auf die bekannte Neigung des Rauschbrandbazillus zur Bildung von Karikaturen, dafs es sich um eine rein äufserliche Ahnlichkeit handelt, hervorgerufen durch züchterische Mifshandlung unter unnatürlichen Bedingungen. Ja, aber vielleicht ist auch der

Milzbrandbazillus in seinen vorschriftsmäfsigen Formen nur eine Karikatur, der unbewegliche Zustand eines beweglichen Stäbchens (derartige bewegliche milzbrandähnliche Stäbchen sind bekanntlich im Boden verbreitet). Darüber kann kein Zweifel bestehen, die Natur versteht das Variieren noch viel besser als wir, und auch das Mifshandeln, speziell dort, wo es sich um Wechselwirkung zwischen verschiedenen Organismen dreht.

Wir sind heute nicht sicher, ob nicht gut beschriebene asporogene, unbewegliche Stäbchen, die wir mit der Nahrung aufnehmen, als anders geartete, sporogene, bewegliche Bakterien den Darm verlassen oder umgekehrt.

Ich will auch ganz kurz die Frage der Virulenz bzw. Pathogenität streifen. Gelingt es etwa in diesem Sinne, den Rauschbrandbazillus in den Milzbrandbazillus umzuwandeln? Davon ist nicht die Rede. Die einmal an unsere Nährböden so weit angepafsten, durch Umzüchten veränderten Organismen sind ebenso, wie die bei solchen Verhältnissen veränderten Milzbrandbazillen harmlos, avirulent. Bei den einschneidenden Veränderungen des Biochemismus ist der Verlust der Virulenz, dieser seltenen und hochangesehenen Eigenschaft, nicht zu verwundern.

Ich habe mich wiederholt bemüht, von der Vorstellung ausgehend, dafs es sich bei der Giftbildung der Bakterien um das Erscheinen abnormer Stoffe als Begleiterscheinung von ungeordneten Übergängen aus einem Biochemismus in einen anderen (z. B. Fäulnis in Gärung) handle, durch schroffen Nährbodenwechsel und wiederholte Züchtung unter Bedingungen, welche solchen Übergängen entsprechen, harmlose Bakterien virulent oder wenigstens giftig zu machen. Ich habe alle Mittel versucht, die Stäbchen aufzureizen. Alles vergeblich. Wir können die unseren Kulturen angepafsten harmlosen Bakterien nicht mehr virulent machen. Wir sind ja kaum imstande, abklingende Virulenz aufzuhalten, noch viel weniger Virulenz künstlich hervorzurufen. Dazu reichen offenbar unsere Mittel nicht aus. Es ist das Vorrecht der Natur, diese Zustände im Kampf ums Dasein zu erzeugen, und in ihrer Eigenart mehr minder dauernd festzuhalten, in dem Kampf ums

Dasein, in dem zwar in der Regel die schwächeren Individuen unterliegen, jedoch gelegentlich, wenn sich die Organismen gegenseitig vergiften, die schwächeren die stärkeren umbringen. Wie dem auch sei, die vorliegenden Erfahrungen berechtigen uns zu einer freieren Auffassung in bakteriologischen Dingen. Diese freiere Auffassung kann nicht darin bestehen, dafs wir sagen, dafs alle Bakterien gleich sind. Das wäre biologisch taktlos. Wir werden nach wie vor behaupten müssen, die Zustände dieser verschiedenen Bakterienarten sind streng spezifisch, doch ihre Träger sind vielleicht näher verwandt, als wir heute zugeben wollen. Wir müssen nur früh mit unserer variierenden Behandlung eingreifen, sobald wir sie aus der Natur bekommen, wo so häufig Übergangszustände vorkommen, und wir dürfen nicht hiermit warten, bis sie uns aus Králs Laboratorium in Prag zugeschickt werden.

Die Übergangszustände sind es also, die unser ganzes Interesse verdienen.

Die Natur ist nach einem berühmten Ausspruch alle Augenblicke am Ziele. Sie schiefst aber bekanntlich auch alle Augenblicke übers Ziel. Sehr oft, wenn sie am Ziele ist, zeigt sie sich in rätselhaft einfacher Form. Wenn sie aber ihr Ziel verläfst und zum Sprunge auf ein neues Ziel ansetzt, wenn sie sich selbst nicht ganz sicher fühlt und dies durch bizarre Formen verrät, dann können wir sie fassen. Daher mufs unsere Beobachtung an sicheren Formen beginnen, unser Experiment an Übergangszustände anschliefsen.

Gerade durch die in unserer Technik übliche und zum Teil berechtigte, etwas schablonenhafte Gleichheit der kulturellen Behandlung verschiedener Bakterien werden die Differenzen der Zustände recht markant und gut fixiert.

Ein Beispiel: Wir können, von einem Rauschbrandbazillus ausgehend, zehn verschiedene Zustände herstellen. Um diese zehn verschiedenen Zustände auf denselben Zustand zurückzuführen, müfsten wir sie alle verschieden behandeln.

Behandeln wir sie aber gleich, dann behandeln wir sie verschieden, denn dann wirken gleicher Nährboden und

gleiche Bedingungen auf diese verschiedenen Zustände einer Bakterienart als ganz verschiedener Reiz, und wir treiben unter Umständen die Extreme noch mehr auseinander.

Ich bin am Schlusse. Durch die ganze Reihe der vorgeführten Bilder konnten wir den gestaltenden Einflufs des Fortschrittes erkennen, aber auch den der Krankheit. Die Unterscheidung zwischen beiden ist oft sehr schwierig zu treffen. Oft stehen wir zweifelnd und wissen nicht recht, sollen wir in einer Erscheinung einen Fortschritt oder eine Degeneration erblicken. Es geht uns eben auch hier ähnlich wie bei dem Studium der höheren Organismen. Wie dem auch sei, wir dürfen, wenn wir dem Zug der in der Entwicklung nach oben fortschreitenden Organismen folgen, neben dem gestaltenden Einflufs des Fortschritts nicht den karikierenden Einflufs der Krankheit übersehen. Die Krankheit begleitet den Zug, sie marschiert gleich der bekannten Person, bald vorne, lustig springend, die Schellenkappe schwingend, sich auf den Kopf stellend und Purzelbäume schlagend. Dann tritt sie, Grimassen schneidend, in die vorderste Reihe der Marschierenden ein. Jetzt schleicht sie erschöpft dem Zuge nach, hier verschwindet sie, dort taucht sie wieder auf. Sie begleitet den Zug, angefangen von den Stäbchen, den Runen der Natur.

Bemerkungen zu den Tafeln.

Die vorliegenden Photogramme geben ein Beispiel für den Formenkreis, wie er sich in einem speziellen näher studierten Fall des Übergangs vom Rauschbrandbazillus in den aeroben Zustand entwickelte.

Fig. 5 zeigt eine 40 fach vergröfserte Kolonie. Die übrigen Photogramme sind bei 1000 facher Vergröfserung aufgenommen. (Die Aufnahmen wurden von dem Verfasser im Privatlaboratorium des Universitätslehrers Herrn Hinterberger hergestellt.)

Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Tiere.

Von

Dr. med. **A. Nifsle.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

(Mit einer Tafel.)

Im folgenden soll eine Reihe von Befunden mitgeteilt und besprochen werden, die ich am Blut von Laboratoriumstieren festzustellen Gelegenheit hatte, welche mit Trypanosoma Brucei, Tr. equinum oder Tr. Lewisii infiziert waren. Ich beziehe mich dabei auf eine vorläufige Mitteilung der ersten Resultate dieser Untersuchungen, die im November vorigen Jahres in der hygienischen Rundschau erschienen ist.

Als Impftiere dienten weifse bzw. schwarzweifse Ratten (in der ersten Zeit ausschliefslich) und weifse Mäuse, soweit sie bei den betreffenden Trypanosomenarten in Betracht kamen; in letzter Zeit wurden auch Meerschweinchen mit Nagana- und Cadérasparasiten infiziert. Ersteres Virus stammte aus dem hiesigen Institut für Infektionskrankheiten (Togohengst), wo es sich als schwaches Gift insofern erwiesen hatte, als es grofse Tiere nicht tötete (Martini). Die Trypanosomen des Mal de Cadéras verdanke ich Herrn Geheimrat Ehrlich. Die Rattentrypanosomen wurden dem Blut einer hier frisch getöteten grauen Ratte entnommen.

Als Mikroskop diente Zeifs Ia mit Kreuztisch, den Objektiven AA, DD und Ölimmersion $^1/_{12}$, sowie den Okularen 2 und 4. Als Lichtquelle benutzte ich bei allen feineren Untersuchungen den Auerbrenner, mit dessen Hilfe sich Konturen und Farbenunterschiede in vielen Fällen weit genauer feststellen liefsen, als selbst bei hellem Tageslicht.

Die Herstellung der Blutausstriche geschah nur auf Objektträgern und zwar nach dem Verfahren von Jansco und Rosenberger; die Präparate wurden in Alkohol absolutus fixiert und nach Giemsas älterer Methode gefärbt. Wo die Anwendung anderer Arten der Fixierung und Färbung der Kontrolle halber herangezogen werden mufste, sollen diese besonders erwähnt werden.

Ihren Ausgang nahmen meine Untersuchungen von der bekannten Erfahrung, dafs bei der von Neal und Novy angegebenen Züchtung von Trypanosomen auf künstlichen Nährböden jede Verunreinigung durch Bakterien zum schnellen Absterben der Kulturen führe und daher sorgfältig vermieden werden müsse. Ich wollte nun prüfen, ob auch innerhalb des Tierkörpers den Trypanosomen diese Empfindlichkeit Bakterien gegenüber zukäme, und wählte dazu den Prodigiosus, da er aus Blut und Organen leicht wieder zu züchten sein mufste, falls er überhaupt im Tierkörper am Leben blieb (die Bertarellische Arbeit war mir damals noch nicht bekannt). Kartoffelröhrchen wurden mit einem Farbstoff bildenden Institutsstamm beschickt und bei 22° aufbewahrt. Unter diesen Bedingungen entwickelte sich in 4—6 Tagen ein dicker, dunkelroter Belag. Einige Vorversuche mit Aufschwemmungen davon in 0,9 proz. Kochsalzlösung, die Ratten intraperitoneal injiziert wurden, erwiesen eine enorme Toxizität dieser Kulturen und ferner die Möglichkeit, Farbstoff bildenden Prodigiosus aus dem Herzblut frisch verendeter Tiere wieder rein zu züchten.

Bei der Durchsicht der Literatur erfuhr ich nun aus dem eben erwähnten Aufsatz Bertarellis, der mit Prodigiosusbouillonkulturen an Meerschweinchen experimentierte, dafs auch sein Prodigiosus giftige Eigenschaften gezeigt, dafs er sich im

Tierkörper vermehrt und ferner, dafs er die Fähigkeit besessen hatte, durch Beimischung mäfsiger Mengen zu Milzbrandinjektionen Tiere länger am Leben zu erhalten, als die nur mit Milzbrand geimpften Kontrolltiere. Dieser letzte Umstand veranlafste mich, die geplanten Versuche doch mit diesem Bakterium, wenn auch unter verändertem Gesichtspunkt, vorzunehmen.

Von der Verwendung von Mäusen als Impftieren wurde Abstand genommen, da die Dosierung des Prodigiosus, ihrer geringen Widerstandsfähigkeit entsprechend, noch weit mehr Schwierigkeiten bot, als dies schon bei den ausgewachsenen Ratten der Fall war, die ausschliefslich für diese Versuche benutzt wurden.

Sobald in den subkutan mit Naganaparasiten geimpften Tieren eine einigermafsen reichliche Trypanosomenansammlung erzielt war, die der Zahl nach etwa dem zweiten Tage vor dem Tode bei den Kontrolltieren entsprach, wurden ihnen Aufschwemmungen der 4—6 Tage alten Prodigiosuskulturen intraperitoneal injiziert. Dabei zeigte sich, dafs man unter diesen Bedingungen meist nicht über eine Dosis von $^1/_{20}$ Öse hinausgehen durfte; kam es doch vor, dafs auch bei dieser Menge die Tiere innerhalb kurzer Zeit verendeten, zuweilen schon nach $^1/_4$ Stunde. Bei einer der Ratten, die die Injektion gut vertragen hatte und auch am nächsten Tage trotz der weiter vermehrten, jetzt sehr reichlichen Trypanosomen einen verhältnismäfsig munteren Eindruck machte, konnte ich nun am Morgen darauf (45 Stunden nach der Injektion) das Verschwinden der Flagellaten bis auf ganz spärliche Exemplare konstatieren; das Blut sah heller als vorher aus, auch war die Zahl der roten Blutkörperchen deutlich vermindert. In gefärbten Ausstrichpräparaten fiel die grofse Menge polychromatophiler Erythrozyten, meist zugleich Megalozyten, auf, die die normalen Blutkörperchen oft um das Vier- bis Fünffache überragten; die Mehrzahl zeigte ziemlich dunkle blaurote Färbung, der kleinere Teil war heller tingiert. Schon bei mittlerer Vergröfserung waren in vielen dieser polychromatophilen Blutkörperchen Anhäufungen chromatinroter Elemente sichtbar, während die orthochromatischen Erythrozyten

nichts Abnormes erkennen liefsen. Bei der genaueren Untersuchung dieser Präparate gelang es mir, einen dunkel gefärbten Megalozyten anzutreffen, in dem deutlich die Konturen eines geifsellosen Trypanosomas mit etwas blassem Kern, aber leuchtendroter Geifselwurzel (Zentrosom) erkennbar waren; der Körper lag in Hufeisenform, die Plasmaenden waren zugespitzt. Fig. 1 stellt einen solchen Befund dar, nur sind in diesem Falle die Plasmaenden abgerundet, so dafs das Gebilde mehr Wurstform angenommen hat. Die Wiedergabe der ersten Beobachtung war mir aus äufseren Gründen leider nicht mehr möglich.

Ähnliche hufeisenförmige Gebilde wurden in diesen Präparaten gar nicht so selten angetroffen, doch waren bei ihnen die Konturen nicht so scharf und ein Kern, oft auch eine Geifselwurzel nicht deutlich sichtbar; es konnte dann nur aufserhalb des Hufeisens und zwar in seiner Konkavität eine gröfsere oder kleinere Menge roter Körnchen nachgewiesen werden. Unter diesen Körnchen, deren Mehrzahl unregelmäfsige Form, Zahl und Anordnung zeigten, befanden sich nun oft an ein oder zwei Stellen paarweis aneinandergelagerte, punktförmige Elemente von $^1/_5$—$^1/_3$ μ Gröfse, die Ähnlichkeit mit Diplokokken oder den in Teilung begriffenen Geifselwurzeln eines Trypanosomas hatten. Sie fanden sich jedoch auch in solchen polychromatophilen Erythrozyten, die aufser ihnen nur noch unregelmäfsige rote Körnchen oder gar nichts Besonderes aufwiesen. Diese selben Gebilde konnte ich im Blut aller Ratten feststellen, bei denen es gelungen war, eine Naganainfektion durch den Prodigiosus günstig zu beeinflussen, doch auch schon auf der Höhe der Infektion, wenn auch in geringerer Zahl. Ferner fand ich die Körperchen bei wilden und zahmen Ratten, die in der Freiheit resp. künstlich mit Tr. Lewisii infiziert waren und entweder zahlreiche Flagellaten aufwiesen oder in der Heilung begriffen waren. Auch graue Ratten, die keine Trypanosomen enthielten, aber von Orten stammten, wo Tr. Lewisii angetroffen worden war, zeigten, allerdings meist ziemlich spärlich, diese Doppelkörnchen, während ich sie bei ungeimpften zahmen Tieren nicht gefunden hatte. Angesichts dieser Resultate hielt ich vor-

behaltlich weiterer sicherstellender Beweise die Vermutung für berechtigt, dafs es sich hier um Formen handle, die Latenzzustände des Trypanosomas darstellen.

Bestärkt wurde ich in dieser Auffassung, als ich bei frischen Präparaten von geeignetem Blut in vereinzelten Megalozyten, allerdings weit seltener als im entsprechenden gefärbten Ausstrich, ebenso geformte Gebilde bemerkte, welche sich durch einen etwas dunkleren Farbenton vom Hämoglobin abhoben und imstande waren wackelnde Bewegungen auszuführen, durch die sie in einem kontrollierten Falle in 5 Minuten von einem Pol des Blutkörperchens zum andern gelangten; die Lage der Doppelkörperchen zueinander blieb dabei unverändert, sie bewegten sich also wie ein kurzes Stäbchen.

Die Vermutung, dafs diese Gebilde, bei denen das Gesetzmäfsige ihrer Form, ihrer Anordnung und ihrer Zahl jeden Verdacht auf Zerfallsprodukte von vornherein auszuschliefsen geeignet war, Latenzstadien von Trypanosomen darstellten, hat sich nun nicht aufrechterhalten lassen. Denn bei weiteren Durchmusterungen von Blutausstrichen nicht geimpfter, ausgewachsener, zahmer Ratten gelang es mir doch in ganz vereinzelten polychromatischen Erythrozyten dieselben diplokokkenartigen Formen aufzufinden, namentlich als ich im Laufe der Zeit die Erfahrung gemacht hatte, dafs ich sie in manchen Fällen erst dann nachweisen konnte, wenn ich die Präparate bei täglich erneuerter Giemsamischung mehrere Tage liegen liefs; trotz der störenden reichlichen braunen Farbniederschläge waren dadurch oft die roten Körnchen einwandsfrei festzustellen, die bei kürzerer Färbung noch nicht sichtbar gewesen waren.

Als ich später begann, auch an anderen Tieren zu experimentieren, zeigte sich, dafs diese Gebilde bei ungeimpften Mäusen oft weit häufiger angetroffen wurden. Ferner fand ich sie im Blut gesunder Meerschweinchen und Kaninchen, eines unter bronchopneumonischen Erscheinungen erkrankten Hundes, während sie sich bei einem gesunden Hunde und mehreren gesunden Rindern nicht feststellen liefsen. Ebenso habe ich sie im gesunden menschlichen Blut bisher niemals auffinden können,

dagegen in einigen Ausstrichen von fiebernden Kranken, auch hier überall nur in polychromatischen Blutkörperchen.

Nachdem sich das Vorhandensein der eigentümlichen Doppelkörnchen nicht als spezifisch für Trypanosomenerkrankungen erwiesen hat, halte ich es für berechtigt, vorläufig nur diejenigen Bilder als beweisend für das Einwandern von Trypanosomen in Erythrozyten anzusehen, wo sich innerhalb derselben noch ein abgegrenzter Plasmakörper mit Kern bzw. Kernrest und Geifselwurzel unterscheiden läfst (Fig. 1). Da meine erste derartige Beobachtung das Blut eines Tieres betraf, bei dem ein sehr reichlicher Parasitengehalt in verhältnismäfsig kurzer Zeit bis auf den Rest spärlicher Flagellaten beseitigt worden war, die Behandlung mit Prodigiosusinjektionen, wie schon oben erwähnt, wegen der schwierigen Dosierung viele Mifserfolge mit sich brachte — geringere Dosen wie die angegebenen wirkten wiederum gar nicht, — so ging ich dazu über, die Behandlung cadéraskranker Mäuse mittels Trypanrot, wie sie von Ehrlich und Shiga angegeben worden ist, für meine Zwecke auszunutzen. Virus und Farbstoff verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrats Ehrlich.

Der in Fig. 1 abgebildete Befund ist mit dieser Methode gewonnen. Immerhin blieben trotz der Durchmusterung zahlreicher Ausstriche Bilder, die die oben angegebenen Bedingungen erfüllten, ein überaus seltenes Vorkommnis. Eventuell sind die Chancen bei gröfseren Tieren günstiger, da dort eine hochgradige Infektion weit länger einwirken kann, ohne dafs Remissionen ausgeschlossen sind.

Was bedeuten nun die kleinen, stets paarweise angeordneten Körperchen? Ich habe schon darauf hingewiesen, dafs eine Erklärung derselben als Zerfallsprodukte nicht in Frage käme, da deren Genese schon den Begriff des Unregelmäfsigen in sich berge. Von wirklichen Zerfallsprodukten trifft man solche, die gleichfalls das Chromatinrot annehmen, auch häufig gerade in den polychromatophilen Blutkörperchen an; in besonders starkem Mafse ist dies bei denjenigen trypanosomiasiskranken Tieren der Fall, wo nach hochgradiger Infektion die Zahl der Flagellaten

in verhältnismäfsig kurzer Zeit zurückgegangen ist. Dabei zeichnen sich unter den polychromatophilen Blutkörperchen im allgemeinen wieder die Megalozyten durch besonderen Reichtum an solchen unregelmäfsigen, meist mehr im Zentrum gelegenen Körnchen aus. Dieselben stellen die Reste des in Zerfall bzw. Auflösung begriffenen Kerns dar. Bei aufmerksamer Betrachtung wird man auch unter diesen Körnchen häufig genug die diplokokkenähnlichen Gebilde herauserkennen; sie sind stets durch dunkleren Farbenton den Kernresten gegenüber ausgezeichnet. Es sei bemerkt, dafs sie in solchen »akuten« Fällen meist gröfser erscheinen (zuweilen $^1/_2$ μ grofs) als bei ungeimpften Tieren, wo sie manchmal kaum $^1/_5$ μ erreichen und nur vermöge der leuchtenden Kontrastfärbung hervortreten (vergl. Fig. 2 und 3). Ferner sei hervorgehoben, dafs man gerade unter den genannten Bedingungen ziemlich oft einen Zwischenraum zwischen den beiden Pünktchen wahrnehmen kann, der zuweilen durch ein gerades oder bogenförmig gespanntes Fädchen überbrückt wird.

Die Lage der Doppelkörnchen in der Blutscheibe ist keine konstante; sie werden bald mehr zentral, bald mehr peripher angetroffen; es scheint, als ob letzteres häufiger wäre.

Zum Vergleich herangezogene Methoden haben ergeben, dafs sie einerseits ebensogut hervortreten bei Fixierung durch die von Ehrlich zuerst empfohlene Erhitzung der Ausstriche wie bei der Argutinskyschen Osmiumfixierung. Von anderen Färbungen wurden Karbolthionin und Heidenhainsches Eisenhämatoxilin, beide mit positivem Erfolg, angewandt, wenn auch keine so scharfen Kontraste zu erzielen waren. Der Polychromasie entsprach bei Thioninfärbung eine deutliche Metachromasie.

Ich bemerke noch, dafs bei Hitze- und Osmiumfixierung Kernzerfallsreste in den Blutkörperchen viel zahlreicher sichtbar werden als bei der Fixierung mit Alkohol absolutus. Ich möchte deshalb der Vermutung Raum geben, dafs bei den beiden ersteren Behandlungsmethoden auch ein Teil der nukleoiden Substanz, wie Lavdowsky nach seinen Versuchen eine in den meisten Blutkörperchen enthaltene, aus dem Kern hervorgegangene, mit

ihm chemisch aber nicht mehr identische Substanz nennt, zur Farbstoffaufnahme befähigt wird.

Um die Doppelkörperchen läfst sich bei Alkoholfixierung fast immer ein bald schmälerer, bald breiterer heller Hof abgrenzen, der zuweilen zipfelartig ausgezogen erscheint, meist aber mehr Kreis- oder Ellipsenform zeigt. Da dieser Hof bei Hitze- und Osmiumfixierung niemals so deutlich erkennbar ist, so kann der Verdacht nicht ganz von der Hand gewiesen werden, dafs er eventuell nur ein Artefakt darstellt.

Auch für die Identität der Doppelkörperchen mit den in frischem Blut beobachteten, gleichgestalteten Gebilden ist insofern ein exakter Beweis noch nicht erbracht, als sie dort weit seltener gesehen wurden als im gefärbten Präparat; allerdings erklärt sich dies zum Teil dadurch, dafs fast nur Megalozyten in Betracht gezogen werden konnten, da ja die meisten Normozyten zu bald durch Übergang zur Stechapfelform ein weiteres Studium von Details unmöglich machen.

Th. Smith beschreibt intraglobuläre Körperchen, die er im frischen Blut kranker und gesunder Rinder gefunden hat; sie sollen meist einzeln, manchmal auch zu zweien vorkommen, im Maximum 0,5 μ grofs und imstande sein, zitternde Bewegungen auszuführen. Smith hielt sie für jüngste Stadien des Texasfieberparasiten. Nach Celli und Santori hat Marchiafava bereits dieselben Formen im Malariablut beobachtet; sie selbst wollen sie u. a. im Blut gesunder Meerschweinchen gesehen haben. Im frischen Rinderblut konnte ich gleichfalls kokkenartige Elemente wahrnehmen, die einzeln oder zu zweien im Erythrozyten vorhanden waren und sich zeitweise bewegten, sie zeigten aber stärkeres Lichtbrechungsvermögen als die oben beschriebenen, und ebenso konnte ich konstatieren, worauf schon Smith hingewiesen hatte, dafs sie sich nicht färben liefsen.

Auch die von Schmauch in den roten Blutkörperchen der Katze entdeckten Elemente, die er für Kernreste hält, und deren Auftreten er auf die toxischen Stoffwechselprodukte von Darmparasiten zurückführt, kommen hier nicht in Betracht, da ihre Form und Zahl nichts so Charakteristisches zeigt.

Bei Präparaten, die mit einer besonderen Fixierungsmethode behandelt waren (Osmium-Pikrinsäure) hatte Petrone in Säugetiererythrozyten Körperchen von körniger Struktur gefunden, die er als Kern angesehen hatte; diese Hypothese war von Negri dadurch widerlegt worden, dafs er sie auch in Erythroblasten neben dem Kern nachgewiesen hatte. Da es sich um Gebilde handelt, die einzeln auftreten, und da ihre Gröfse die der oben beschriebenen bedeutend übertrifft, so können auch sie nicht zur Erklärung herangezogen werden.

Ehrlich fand bei Prüfung von Blutgiften an Mäusen in einem Teil, manchmal in den meisten Blutscheiben ein, zwei oder drei kuglige Gebilde, die er hämoglobinämische Innenkörper nennt, und die er für Degenerationsprodukte hält. Der Umstand, dafs gerade Mäuse als Versuchstiere benutzt wurden, die auch unter normalen Verhältnissen oft relativ viele der eigentümlichen Doppelkörperchen enthalten, ferner das Unbestimmte der Anzahl der hämoglobinämischen Innenkörper, sowie das Fehlen jedes Hinweises auf ihr Vorkommen in bestimmten Arten der Blutkörperchen, müssen die Identität auch dieser Formen ausschliefsen.

Nun hat Dehler 1895 Untersuchungen über die roten Blutkörperchen von wenige Tage alten Hühnerembryonen angestellt (Schnittmaterial, Sublimatfixierung, Färbung mit Eisenhämatoxilin nach Heidenhain) und dabei konstant unmittelbar neben dem Kern Zentrosomen nachweisen können. Dieselben sind stets in beschränkter Zahl vorhanden und zwar scheint nach den vorzüglichen beigegebenen Zeichnungen die Zahl 2 vorzuherrschen; darauf deutet auch die Tatsache, dafs beim Vorhandensein von dreien das dritte bedeutend kleiner und nach Dehler als Nebenkörperchen aufzufassen ist. Die Gröfse der Zentrosomen beträgt $^1/_4$—$^1/_3$ μ; umgeben sind sie meist von einem hellen Hof von etwa 2 μ Durchmesser. Vereinzelt werden auch Verbindungen zwischen zwei Körperchen beobachtet: »Fälle, in denen man auch an gut differenzierten Präparaten eine Verbindung von zwei in der Schnittebene liegenden Zentralkörpern durch eine schmale, dunkelgefärbte Zwischensubstanz findet, sind selten (primäre Zentrodesmose von M. Heidenhain).«

Die Ähnlichkeit dieser Gebilde mit den in polychromatophilen Erythrozyten von Säugetieren beobachteten ist eine aufserordentlich frappante; rechnet man dazu, dafs auch die Erklärung der letzteren als Zerfalls- oder Kunstprodukte jeder Wahrscheinlichkeit entbehrt, dafs es sich vielmehr ebenfalls um morphologisch präzisierte Gebilde handelt, so kann meines Erachtens kein Zweifel obwalten, dafs sie wirklich die erhalten gebliebenen Zentrosomen von Erythroblasten darstellen, zumal sie gerade häufig in solchen Blutkörperchen angetroffen werden, wo noch Reste des zerfallenen Kerns nachweisbar sind.

Darauf, dafs die relative Widerstandsfähigkeit der Zentrosomen bei der Kernnekrose allgemeiner begründet ist, deuten die bekannten Befunde von Resten in ihrem natürlichen Medium zugrundegegangener Flagellaten, z. B. Trypanosomen oder Lamblia intest., wo die mit den Fufspunkten bzw. Zentrosomen in Verbindung gebliebenen Geifseln diese beim Mangel jeglichen Kerns und Plasmas noch als solche feststellen lassen und damit verraten, dafs sie morphologisch und tinktoriell noch unverändert erhalten geblieben sind. Ja, ich habe in einem frischen Trypanosomenpräparat eine Geifsel sich in der Art der vollständigen Trypanosomen fortbewegen sehen, der neben dem Zentrosom nur noch ein spärlicher Plasmarest anhaftete. Wenn auch die Intensität der Bewegungen allmählich abnahm, so dauerte es doch 10 Minuten, ehe sie vollkommen aufgehört hatten. (Die unmittelbare Bedeutung des Kerns für die Funktion der Geifsel erscheint also hier in ähnlicher Weise ausgeschlossen, wie dies bei den Haaren der Flimmerepithelien der Fall ist, da für deren Funktion in erster Linie auch nur die Integrität ihrer Basalkörperchen und ihr Zusammenhang mit ihnen erforderlich ist).

Nun ist von Bremer in jedem roten Blutkörperchen der Vögel und niederen Wirbeltiere ein Gebilde beobachtet worden, das er seiner Lage wegen Paranuklearkörperchen nennt. Er identifiziert es mit einem im Säugetierblut auch von ihm gefundenen Stigma genannten Pünktchen, anderseits erklärt er es auf Grund der Dehlerschen Befunde für das Zentrosom der

Blutzelle. Das Stigma beschreibt Bremer als ein winziges Kügelchen, das er besonders bei chronischen Nervenerkrankungen wahrgenommen haben will; beim Absterben des Blutkörperchens soll es deutlicher und gröfser werden. Nach diesen Angaben und nach der beigegebenen Zeichnung glaube ich unter Berücksichtigung meiner Befunde nicht, dafs eine Identifizierung des Stigmas mit den Zentrosomen der Blutkörperchen aufrechterhalten werden kann.

Bei der Bedeutung, die der weitere Ausbau der normalen und pathologischen Anatomie der Blutelemente für den Parasitologen besitzen mufs, mag hier noch ein eigentümliches Gebilde Erwähnung finden, das ich zuerst in polychromatophilen Erythrozyten von Meerschweinchen angetroffen habe, bei denen nach Anhäufung reichlicher Trypanosomen im Blut (Nagana und Cadéras) eine spontane Remission eingetreten war. Es handelt sich um scharf konturierte Reifen, die in der Peripherie des Blutkörperchens gelegen sind, bei Giemsafärbung intensiv rot und etwas dicker erscheinen als Trypanosomengeifseln. Ihr Durchmesser beträgt im Maximum etwa 8—10 μ. Meist ist an ein oder zwei Stellen der Reifen punktförmig verdickt. Im frischen Präparat habe ich dieses Gebilde bisher nicht auffinden können. Sind die Reifen so fixiert, dafs ihre Ebene senkrecht zu der des Objektträgers gelegen ist, so entsteht entweder das Bild einer langen Ellipse, oder, wenn sich die gegenüberliegenden Bögen schneiden, eine Achtform (Fig. 4); durch Verstellung der Mikrometerschraube kann man sich dabei leicht überzeugen, welche Hälfte oberhalb und welche unterhalb des Blutkörperchens sich befindet. In seltenen Fällen konnte ich eine Zerreifsung des sonst unveränderten Reifens konstatieren (Kunstprodukt?).

Wenn man Blutausstriche zu einer Zeit herstellt, wo die Remission der Trypanosomenerkrankung schon einige Tage bestanden hat, so trifft man häufig kleinere Reifen von etwa 4—5 μ Durchmesser, die sich entweder sonst durch nichts von den gröfseren unterscheiden oder zugleich dünner als diese und weniger intensiv gefärbt (mehr graurot) erscheinen; oft zeigen

solche dünne Reifen dann aufserdem einen mehr oder minder vorgeschrittenen körnigen Zerfall. Es fiel mir auf, dafs Blutscheiben, die degenerierte Reifen enthielten, nicht selten gleichzeitig basophile Körnung aufwiesen. Ob die körnig zerfallenden Reifen mit irgend welchen Fädchen oder kreisförmig angeordneten Elementen, wie man sie zuweilen, auch im Blut anderer Tiere beobachtet, identisch sind, mufs durch weitere Untersuchungen klargestellt werden.

In dem Blut der Meerschweinchen, bei denen ich diese Gebilde zuerst verhältnismäfsig häufig beobachtete (ca. in jedem 5. bis 6. Gesichtsfelde bei Immersion 1 Reifen), wurden sie bei länger bestehender Remission allmählich seltener. Bei Ratten und Mäusen habe ich sie niemals gesehen trotz der grofsen Zahl von Ausstrichen, die ich gerade vom Blut dieser beiden Tierarten durchmustert habe. Nur sehr vereinzelt traf ich sie im Blut normaler Meerschweinchen. Um so mehr war ich erstaunt, teils unveränderte, teils degenerierte Reifen in manchen Präparaten vom Blute fieberhaft erkrankter Menschen und zwar auch hier zuweilen gar nicht so selten vorzufinden; einzelne Reifen lagen vollkommen frei, bei anderen erkannte man noch das zugrundegehende zugehörige Blutkörperchen an der hellrötlich blauen Farbe. Ebenso zeigten auch die erhaltenen Erythrozyten, die Reifen einschlossen, meist deutliche Polychromasie.

In der Literatur habe ich nur an einer Stelle die Beschreibung von Blutkörperchen mit reifenartiger Einfassung vorgefunden und zwar in derselben oben zitierten Dehlerschen Arbeit, die sich mit den Untersuchungen an Blutzellen junger Hühnerembryonen befafst. Dehler, der am Schnittmaterial beobachtete, beschreibt das Gebilde als $^1/_4$—$^1/_2$ μ dicken, intensiv geschwärzten Saum (Färbung nach Heidenhain), der »als zum Protoplasma der Zelle gehöriger Reifen aufzufassen ist, in dem die Substanz der Zelle ausgespannt ist.« Der Reifen soll, sobald die Zelle eine gewisse Gröfse erreicht und sich zur Teilung anschickt, schwinden. Bei den jungen Zellen soll er, wenn sie aus der Kugelform zur bikonvexen Linsenform übergehen, sich wieder einstellen.

In der Literatur seit 1895 habe ich vergebens Notizen über Nachprüfung oder weitere Untersuchungen dieser gerade bei Metazoenzellen einzig dastehenden Erscheinung gesucht. Mögen deshalb meine Beobachtungen und das damit begründete praktische Interesse dazu beitragen, weitere vergleichend embryologische und pathologisch anatomische Studien über diesen Gegenstand anzuregen.

Sowohl die Zentrosomen wie die Dehlerschen Reifen stellen, wie ich schon hervorhob, Eigentümlichkeiten mancher polychromatophiler Erythrozyten dar. Auf die Polychromasie hat zuerst Ehrlich aufmerksam gemacht und sie anfangs für eine Alterserscheinung angesehen, da derartige Blutkörperchen häufig ausgesprochene Degeneration erkennen liefsen. Nachdem Gabritschewsky dem gegenüber durch seine Untersuchungen erwiesen hatte, dafs die polychromatophilen Erythrozyten vielmehr junge Formen darstellten, modifizierte Ehrlich seine Anschauung dahin, dafs er sie für von Jugend auf degenerierte Elemente erklärte.

Die Degenerationserscheinungen dokumentierten sich bei meinen Präparaten entweder in der Weise, dafs sich an den Blutkörperchen Einkerbungen zeigten, die ihnen bei tieferem Eindringen bisweilen Rosettenform gaben — ihr Farbenton war dann stets mehr dunkelblau —, oder dafs grofse, blasse, deshalb oft kaum erkennbare Gebilde in den Ausstrichen, manchmal in grofser Zahl, wahrgenommen werden konnten, die eine meist exzentrisch gelegene Vakuole von ziemlicher Ausdehnung erkennen liefsen und deshalb den Eindruck von rosa oder bläulichrosa gefärbten Halbmonden machten, zumal die dünnste Stelle der Vakuolenwand wirklich oft eingerissen war (Fig. 3). In manchen Halbmonden liefsen sich noch deutlich Zentrosomen nachweisen (Fig. 3 rechts).

Schon weiter oben hatte ich bemerkt, dafs polychromatophile Erythrozyten oft zugleich Megalozyten sind; in besonderem Mafse trifft dies bei hochgradigen Trypanosomeninfektionen zu, die eine möglichst akute Besserung erfahren haben. Diese Resultate stehen in Parallele mit den Befunden Askanazys bei perniziöser

und Bothriocephalusanämie, der Polychromasie als Haupteigentümlichkeit der meisten Erythroblasten, die Mitose zeigten, und der meisten Megaloblasten angetroffen hat. Askanazy hält Megaloblasten und Normoblasten nicht für prinzipiell, sondern nur für graduell verschieden, da er Megaloblastenkerne in Normoblasten beobachtet hat und umgekehrt.

Meine Befunde sind geeignet, diese Anschauungen hinsichtlich der Megalozyten und Normozyten zu bestätigen. Meines Erachtens ist viel eher die Polychromasie als Merkmal eines prinzipiell verschiedenen Entwicklungsganges zu betrachten, wenigstens bei den frisch eingetretenen Anämien, wie sie unter den eben angegebenen Bedingungen bei Trypanosomeninfektionen zustande kommen. Hier trifft man Kernzerfallsreste, Zentrosomen und Dehlersche Reifen nur bei polychromatophilen roten Blutkörperchen und zwar ohne sonstige Unterschiede bei Megalozyten und Normozyten. Besonders unter Benutzung der grofsen, leicht erkennbaren Dehlerschen Reifen ist man deshalb imstande, die Schicksale der polychromatophilen Erythrozyten mit weit gröfserer Genauigkeit zu verfolgen als bisher. Man findet nämlich nach einigen Tagen neben der bekannten, mit Vermehrung der Blutplättchen verbundenen Neubildung orthochromatischer Blutkörperchen auch solche, die erhaltene oder degenerierte Reifen einschliefsen und dadurch beweisen, dafs sie aus polychromatischen Erythrozyten hervorgegangen sind. Die degenerierten Reifen lassen sogar erkennen, dafs das betreffende Blutkörperchen nicht nur trotz des überstürzten Entwicklungsganges noch ausreichende Widerstandsfähigkeit besitzt, sondern dafs es auch zu ausgesprochener Aktivität befähigt ist.

Ebenso kann man die Zentrosomen zum Beweis heranziehen, dafs Umwandlungen polychromatischer Erythrozyten in orthochromatische vorkommen; denn unter denselben Bedingungen werden Zentrosomen auch in den letzteren angetroffen.

Das Vorhandensein von Zentrosomen bzw. Reifen im Blutkörperchen ist in höherem Mafse als die einfache Polychromasie das Merkmal einer Blutschädigung. Da eine solche bei kleinen

Tieren, z. B. Mäusen, durch weit geringere Anlässe hervorgebracht wird, da ferner die Häufigkeit der Anlässe mit davon abhängig ist, ob das Tier in der Freiheit oder im Käfig lebt (graue und zahme Ratten), so erklärt sich auch ohne weiteres die Verschiedenheit der Befunde bei gesunden, ausgewachsenen Tieren verschiedener Art.

Ich kehre zu den Trypanosomen selbst zurück. Wie schon im Beginn der Arbeit mitgeteilt wurde, hatte ich Gelegenheit, mit Tr. Lewisii, Tr. Brucei und Tr. equinum zu experimentieren.

Es ist bekannt, dafs das erstere von den beiden letzteren in der Art seiner Vorwärtsbewegung abweicht; dabei ist jedoch vorausgesetzt, dafs dieser Unterschied nur in solchen Bezirken deutlich hervortritt, wo die Bewegung ungehindert geschehen kann, also an blutkörperchenfreien Stellen. Sucht man nun den Bewegungsmodus genauer zu analysieren, so kommt man zu dem Resultat, dafs hier prinzipielle Unterschiede bestehen. Während nämlich Tr. Brucei und Tr. equinum, Körper und Geifsel als Ganzes genommen, sich in der Weise fortbewegt, dafs eine Welle nach der andern an dem Flagellaten von hinten nach vorn entlang läuft, wobei nur manchmal das hintere Körperdrittel fixiert und als Steuer benutzt wird, kann man bei Tr. Lewisii stets zwei Knotenpunkte beobachten, von denen der vordere im ersten Körperdrittel liegt, während der hintere sich ungefähr an der Grenze vom zweiten und dritten Drittel befindet. Der Hauptteil dieses hintersten Drittels dient stets als Steuer und schwingt deshalb nicht mit; der übrige Teil der Parasiten bewegt sich in der Weise eines in zwei Knotenpunkten fixierten, transversal schwingenden Stabes. Die beiden Bewegungsarten unterscheiden sich deshalb genau so wie fortlaufende und stehende Wellen. Bei manchen geringfügigen Ortsveränderungen und stets bei Entgegenstehen von Hindernissen wählt dagegen auch Tr. Lewisii den ersteren Modus.

Zwischen Tr. Brucei und Tr. equinum konnte ich hinsichtlich ihrer Bewegung keine charakteristischen Unterschiede wahr-

nehmen; die Schwingungen des Tr. equinum erschienen nur im allgemeinen eckiger, ungeschickter.

Am leichtesten erkennen läfst sich vielmehr der letztere Flagellat durch sein bekanntlich sehr kleines Zentrosom, das früher von manchen Beobachtern überhaupt geleugnet wurde. Laveran und Mesnil geben seine Gröfse auf $^1/_4$—$^1/_3$ μ an und betonen, dafs es sich tinktoriell nicht von der Geifsel unterscheide. Auch ich konnte mich, namentlich im Anfang, von der Schwierigkeit überzeugen, welche die Färbung dieser Körperchen bietet. Dadurch, dafs ich Farbstofflösungen, wie bisweilen bei den Blutkörperchenzentrosomen, zwei oder drei Tage einwirken liefs, erzielte ich auch hier oft doch noch ein deutliches Resultat. Die Zentrosomen hatten also in diesen Fällen das Chromatinrot später aufgenommen als die Geifsel, während bei Ratten- und Naganatrypanosomen ja die Reihenfolge umgekehrt ist. Sind die Ausstriche dünn, so dafs die einzelnen Parasiten und Blutkörperchen vollkommen isoliert liegen, so erreicht man bei guter Fixierung meist schon nach 24 stündigem Färben einwandsfreie Zentrosomen. Man kann dann sogar oft einen gegenüber der Geifsel deutlich dunkleren Farbenton an ihnen bemerken; bisweilen erscheint auch Zentrosom und Geifsel durch eine helle Zone getrennt wie bei Nagana. Ebenso liefs sich oft genug die Hintereinanderstellung der frisch geteilten Zentrosomen feststellen, wie sie Martini beim Tr. Brucei beschrieben hat.

Schon in meiner früheren Arbeit habe ich auf Befunde in frischen und gefärbten Präparaten aufmerksam gemacht, die mich veranlafsten anzunehmen, dafs die Trypanosomen die Fähigkeit besitzen, durch rote Blutkörperchen hindurchzuschlüpfen. Weitere häufige Blutuntersuchungen waren nur geeignet, mich in dieser Annahme zu bestärken, nachdem ich noch andere Begleiterscheinungen des Durchschlüpfens an den roten Blutkörperchen kennen gelernt hatte.

Den ersten Verdacht auf die Möglichkeit des Eindringens der Geifsel in das Erythrozytenplasma schöpfte ich aus den zahlreichen Bildern, wo ein isoliertes Blutkörperchen durch die

Geifselspitze eines Trypanosomas in der Weise hin- und hergeschleudert wurde, wie es etwa mit einem Stück Wäsche beim Spülen derselben geschieht. Doch lassen derartige Bilder immerhin noch eine verhältnismäfsig einfache Erklärung zu, wenn man mit Weidenreich eine Glockenform der Erythrozyten in isotonischen Lösungen annimmt.

Das beste Material zu diesen Untersuchungen liefern Tiere, bei denen eine einigermafsen reichliche Trypanosomenzahl bereits mehrere Tage vorhanden ist; es mag dies darin seinen Grund haben, dafs unter diesen Bedingungen der Widerstand des Blutkörperchenplasmas den Flagellaten gegenüber bedeutend geringer ist als im Beginn der Infektion. Richtet man hier sein Augenmerk auf solche Stellen, wo neben isolierten Blutscheiben auch Zusammenballungen von solchen zu beobachten sind, wo also ein genügender Zwischenraum zwischen Deckglas und Objektträger vorhanden ist, so wird man in mehr oder weniger häufigen Fällen während und nach dem Zusammentreffen von Flagellat und Erythrozyt an letzterem Veränderungen wahrnehmen können, die sich teils schwer, teils gar nicht durch ein einfaches Vorbeigleiten erklären lassen.

Zu den ersteren gehört die Verkürzung des Blutkörperchens in der Bewegungsrichtung des Parasiten, der deutlich langsamer fortschreitet und dessen Weg nach dem Verschwinden durch eine oft mehrere Sekunden sichtbare helle Linie im Erythrozyten markiert bleibt. Zu den letzteren gehört das momentane Vorstülpen der Blutkörperchenperipherie zu einer Spitze durch die von der Gegenseite her vordringende Geifsel, wie man es bisweilen beim Nachlassen der Bewegungsintensität beobachten kann. Es empfiehlt sich überhaupt, nach der Untersuchung des frischen Bluttropfens zum Studium der Details zu warten, bis die Bewegungen der Trypanosomen langsamer geworden sind.

Ferner ist meiner Meinung nach das Auftreten solcher Veränderungen als sicherer Beweisgrund zu verwerten, die selbst bei der hohen Elastizität der Erythrozyten nicht mehr ausgeglichen werden. So konnte ich im Blut nagana- oder cadéraskranker Meerschweinchen beim Zusammentreffen von Trypanosomen mit

Blutscheiben oft in diesen helle, zickzackförmige Linien entstehen sehen, die, je nachdem sie mehr horizontal oder mehr vertikal gerichtet waren, durch das ganze Blutkörperchen oder nur durch einen Teil desselben zu verlaufen schienen. Wurde es von einem neuen Flagellaten erfafst und kräftig geschüttelt, so verschwand auch die Zickzacklinie wieder, geringere Erschütterungen vermochten sie dagegen nicht zu beseitigen. Deshalb war es auch möglich, in einem vorsichtig hergestellten frischen Präparat dieselbe Veränderung schon an einer Reihe von Blutkörperchen vorzufinden, ein Beweis, dafs Degenerationsvorgänge aufserhalb des Körpers auch als disponierende Momente nicht in Betracht kommen.

Weniger häufig als die eben beschriebene Art konnte ich an den Erythrozyten beim Zusammenstofs mit Trypanosomen Veränderungen entstehen sehen, die auch bei längerer Beobachtung jeder Erschütterung widerstanden; sie bestanden im Auftreten kreisförmiger oder mehr langgestreckter Stellen, die sich aber auch allmählich zur Kreisform abrundeten; beide zeichneten sich durch ihre blendend weifse Farbe aus (Vakuolen?). Ihre Gröfse entsprach vom Beginn ihres Entstehens an ungefähr dem 5. bis 6. Teil des Blutkörperchens.

Auch in gefärbten Präparaten liefsen sich Bilder nachweisen, die meiner Ansicht nach als Beweisgründe für die Fähigkeit des Durchschlüpfens der Trypanosomen verwendbar erschienen. Dazu gehören die hellen Streifen in Erythrozyten, die eben von einem Flagellaten verlassen werden oder verlassen worden sind und sicher auf deren Einwirkung zurückgeführt werden dürfen. Will man aber auch diese Erscheinung deshalb nicht als beweiskräftig anerkennen, weil dafür Vorgänge verantwortlich zu machen wären, die sich erst auf dem Objektträger abgespielt hätten, so mufs doch ihre Übereinstimmung mit den Streifen auffallen, die eben als Blutplättchen ausgestofsene Erythroblastenkerne zurückgelassen haben.

Fig. 6 zeigt an dem Blutkörperchen die schon erwähnte Verkürzung in der Bewegungsrichtung des Parasiten, der in diesem Bezirk deutlich eingeschnürt erscheint und weniger

scharfe Konturen aufweist als aufserhalb; hinter dieser Zone ist es durch Anstauung des Plasmas zur keulenartigen Verdickung des Körperendes gekommen. In Fig. 7 ist die Einschnürung noch erheblicher. Derartige Bilder, die ich für beweisend halte, sind in geeignetem Material gar nicht so selten.

Wie schon bemerkt, lieferten für diese Beobachtungen das brauchbarste Material diejenigen Tiere, bei denen schon mehrere Tage eine einigermafsen hochgradige Infektion bestand. Anderseits schien es mir nach den zahlreichen Untersuchungen, als ob ein Teil der Trypanosomen auffallend häufig den Weg durch Blutkörperchen wählte, während ein anderer sie vermied, so dafs also zu der Disposition des Blutes noch eine Disposition der Parasiten hinzukäme.

Trotz der ausgiebigen Verzerrungen, welche die Folgen des Durchbohrens an und in den Blutkörperchen darstellen und zum Teil zu dauernden Veränderungen führen, glaube ich doch nicht, dafs auf dieser Eigenschaft der Trypanosomen ein wesentlicher Teil ihrer pathogenen Wirkung basiert; denn dem Tr. Lewisii kommt sie ebenso zu wie dem Tr. Brucei und Tr. equinum.

Die Vermutung, dafs mit dem Durchschlüpfen eine Nahrungsaufnahme verbunden sein könnte, hat insofern ziemlich wenig Wahrscheinlichkeit für sich, als von einem Verweilen im Blutkörperchen nur dort die Rede sein kann, wo es sich durch den deutlich erkennbaren Widerstand ohne weiteres erklären läfst. Gegen eine Sauerstoffaufnahme im Erythrozyten spricht aufser dieser Tatsache, dafs die Trypanosomen gegen Sauerstoffabschlufs überhaupt nicht so empfindlich sind. Bewahrt man trypanosomenhaltige Blutstropfen in reiner Kohlensäureatmosphäre bei Zimmertemperatur auf, so ist am Tr. Brucei und Tr. equinum nach $1\frac{1}{2}$ Stunden, am Tr. Lewisii sogar nach 20 Stunden noch keine Schädigung erkennbar; bei 37° und sonst gleichen Bedingungen geht in denselben Zeiten ein grofser Teil zugrunde, der Rest zeigt jedoch deutliche, wenn auch verlangsamte Bewegung.

Es erübrigt noch, auf einige Beobachtungen hinzuweisen, die geeignet erscheinen, dem bisher ziemlich planlosen Aus-

probieren von Heilmitteln gegen Trypanosomenkrankheiten, wenigstens nach einer Seite hin, eine wissenschaftliche Basis zu geben. Ich bemerke im voraus, dafs diese Untersuchungen, die ich erst seit verhältnismäfsig kurzer Zeit durchführe, noch keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben können. Trotzdem sollen sie doch schon hier erörtert werden, da ihre Folgerungen vielleicht die Lösung der Heilmittelfrage beschleunigen helfen, deren Wert besonders durch die schnelle Ausbreitung der menschlichen Trypanosomiasis im steten Wachsen begriffen ist.

Bei meinen meisten Experimenten handelte es sich, wie ich öfter erwähnt habe, darum, einigermafsen hochgradige Infektionen so zu beeinflussen, dafs die Parasiten in möglichst kurzer Zeit vollständig oder bis auf spärliche Reste beseitigt wurden. Insofern dürfen diese Versuche deshalb mit Heilversuchen nicht ganz allgemein auf eine Stufe gestellt werden. Aufser dem Prodigiosus und dem Trypanrot benutzte ich an einer Reihe von Naganaratten auch das von Wendelstadt empfohlene Malachitgrün.

Was das Trypanrot anbetrifft, so konnte ich bei Mäusen, die mit dem für grofse Tiere schwach virulenten Naganastamm infiziert waren, eher noch bessere Heilerfolge feststellen wie bei Cadérasmäusen; denn bei den im allgemeinen für Heilzwecke zu kleinen Dosen von 0,3 ccm der 1 proz. Lösung auf 15 g Maus waren bei Nagana seltener Rezidive zu verzeichnen als bei ebenso behandelten Cadérasmäusen; aufserdem wurden bei Nagana nach dem 10. Tage überhaupt keine Rezidive mehr beobachtet, bei Cadéras sogar noch nach 7 Wochen.

Das Auftreten grofser Mengen von polychromatophilen Erythrozyten war, wie schon öfter bemerkt, besonders in den Fällen zu beobachten, wo es sich um ein akutes Verschwinden reichlicher Parasiten aus der Blutbahn handelte, mochte dieses Verschwinden durch künstliche Mittel hervorgerufen sein, oder mochte es eine spontane Remission darstellen, wie sie bei Tr. Lewisii im Rattenblut und wie sie bei Tr. Brucei und equinum im Meerschweinchenblut häufig konstatiert wird. Doch auch schon dann, wenn die Anzahl der Parasiten einen

einigermafsen hohen Grad erreicht hatte, war im allgemeinen schon eine deutliche Zunahme der polychromatophilen Blutkörperchen festzustellen. Da das Auftreten bzw. die Vermehrung dieser Elemente stets darauf hinweist, dafs hier Blut in Regeneration begriffen ist, dafs also vorher gröfsere Mengen Blutkörperchen zerstört sein müssen, so beschlofs ich mittels Zählung derselben mich genauer über den Verlauf der Anämie zu informieren.

In Übereinstimmung mit dem Auftreten der Polychromasie fand sich nun selbst bei reichlichem Parasitengehalt des Blutes eine verhältnismäfsig geringe Abnahme der Zahl der Erythrozyten, die sich erst zu einer viel hochgradigeren Anämie steigerte, wenn die Parasiten verschwanden. Wenn z. B. einer Naganamaus, die schon ziemlich zahlreiche Trypanosomen aufwies, eine nicht zu hohe Trypanrotdosis injiziert wurde, so liefs sich oft am nächsten Tage noch keine Abnahme der Flagellaten, sondern nur das deutliche Häufigerwerden von Degenerationserscheinungen an ihnen beobachten; erst am Tage darauf waren in solchen Fällen die Trypanosomen verschwunden, und erst mit ihrem Verschwinden war gleichzeitig eine rapide Abnahme der Erythrozyten, oft um 2—3 Millionen pro cmm erfolgt. Geht nun die Zerstörung der roten Blutkörperchen noch weiter, so kann ein solches Tier, das von der Infektion vollständig geheilt ist, in den nächsten Tagen noch an der Anämie zugrundegehen. In der Tat sind solche Fälle gar nicht selten; in einem derselben sank die Zahl der Erythrozyten innerhalb von 20 Stunden von 8 auf 3,5 Millionen pro cmm, obwohl die vorschriftsmäfsige Trypanrotdosis nicht überschritten war; das Tier war parasitenfrei und wurde am nächsten Morgen tot vorgefunden. Es liegt nahe, ähnliche Beobachtungen Wendelstadts bei einzelnen Naganaratten, die mit Malachitgrün behandelt waren und auch trotz der Beseitigung der Flagellaten verendeten, in der gleichen Weise zu erklären.

An ungeimpften Mäusen kann man sich ebenso überzeugen, dafs nach Verabfolgung von Trypanrot im Körper ein hämolytisch wirkender Stoff erzeugt wird. Bekanntlich ist auch die

mikrobizide Wirkung des Trypanrots keine unmittelbare und deshalb nicht als die eines Desinfiziens aufzufassen, wie schon Ehrlich und Shiga in ihrer Arbeit hervorheben.

Das bei den akuten Fällen so ausgesprochene zeitliche Zusammenfallen der Vernichtung von Parasiten und Blutkörperchen veranlafst mich, nun anzunehmen, dafs die zum Teil auf der Höhe der Trypanosomeninfektion, besonders aber bei raschem Abfall derselben auftretende Anämie auch bei den künstlich nicht beeinflufsten Heilungen bzw. Remissionen auf eine Wirkung der gleichen Stoffe zurückzuführen ist, welche die Parasiten abtöten. Vielleicht kommt dabei die Tatsache in Betracht, dafs die Trypanosomen tierische Zellen darstellen und aufserdem in derselben Nährflüssigkeit leben wie die Erythrozyten.

Das Zusammenfallen von keimtötender und hämolytischer Eigenschaft konnte auch beim Prodigiosus beobachtet werden (s. o.). Wie Bertarelli berichtet, hat zuerst Pasquini auf das Vorhandensein hämolytischer Substanzen in Prodigiosusbouillonkulturen hingewiesen. Versuche mit der von Laveran gegen Trypanosomiasis empfohlenen arsenigen Säure ergaben bei ungeimpften Tieren gleichfalls ziemlich erhebliche Verminderung der Blutkörperchenzahl (bei einer Maus von 18 g z. B. nach Injektion von 0,1 mg pro die in 3 Tagen von 10 auf 7 Millionen). Ebenso fällt unter den von Wendelstadt versuchten Stoffen die verhältnismäfsig günstige Wirkung des stark hämolytischen Ricins auf. In dieser Beziehung reiht sich auch das von Laveran und Mesnil bei Naganatieren mit Erfolg angewandte menschliche Serum den übrigen therapeutischen Mitteln an.

Alle diese Tatsachen fordern dazu auf, weiter zu untersuchen, ob die sogar bei spontanen Remissionen zutage tretende hämolytische Wirkung als unbedingtes Postulat aller die Trypanosomiasis günstig beeinflussender Stoffe anzuerkennen ist, wie es nach den bisherigen Untersuchungen, zumal bei dem auffallenden Synchronismus der beiden Reaktionen für wahrscheinlich gelten kann, und ferner, ob der mikrobizide und der hämolytische Körper soweit identisch sind, dafs dadurch z. B. die nur bei Mäusen ausgesprochenen Erfolge des Trypanrots ihre Erklärung finden.

Literatur.

Argutinsky. Malariastudien. Archiv f. mikroskop. Anatomie, 1902, Bd. 61.

Askanazy. Über einen interessanten Blutbefund bei rapid letal verlaufender perniziöser Anämie. Zeitschr. f. klin. Medizin, 1893, Bd. 23.

Derselbe. Über Bothriocephalusanämie und die prognostische Bedeutung der Megaloblasten im anämischen Blute. Zeitschr. f. klin. Medizin, 1895, Bd. 27.

Bertarelli. Untersuchungen und Beobachtungen über die Biologie und Pathogenität des Bacillus prodigiosus. Zentralblatt f. Bakteriologie, I. Abt. Originale, 1903, Bd. 34.

Bremer. Über das Paranuklearkörperchen der gekernten Erythrozyten. Archiv f. mikroskop. Anatomie, 1895, Bd. 45.

Derselbe. Die Identität des Paranuklearkörperchens der gekernten Erythrozyten mit dem Zentrosom. Archiv f. mikroskop. Anatomie, 1895, Bd. 46.

Celli u. Santori. Die Rindermalaria in der Campagna von Rom. Zentralbl. f. Bakteriologie, 1897, Bd. 21.

Dehler. Beitrag zur Kenntnis des feineren Baues der roten Blutkörperchen beim Hühnerembryo. Archiv f. mikroskop. Anatomie, 1895, Bd. 46.

Ehrlich. Verhandlungen des XI. Kongresses f. innere Medizin, 1892.

Ehrlich u. Lazarus. Die Anämie, 1898. (In Spezielle Pathologie und Therapie von Nothnagel.)

Ehrlich u. Shiga. Farbentherapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankungen. Berliner klin. Wochenschrift, 1904, Heft 13 u. 14.

Gabritschewsky. Klinische hämatologische Notizen. Archiv f. experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 1891, Bd. 28.

Lavdowsky. Blut und Jodsäure und der sogenannte Chemotropismus. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie, 1893, Bd. 10.

Laveran u. Mesnil. Trypanosomes et Trypanosomiases, 1904.

Martini. Festschrift zum 60. Geburtstage von Robert Koch, 1903.

Negri. Über die Persistenz des Kernes in den roten Blutkörperchen erwachsener Säugetiere. Anat. Anzeiger, 1899, Bd. 16.

Nifsle. Zur Kenntnis der Nagana- und Rattentrypanosomen. Hygienische Rundschau, 1904.

Schmauch. Über endoglobuläre Körperchen in den Erythrozyten der Katze. Archiv f. patholog. Anat., 1899, Bd. 156.

Smith. Die Ätiologie der Texasfieberseuche des Rindes. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1893, Bd. 13.

Weidenreich. Studien über das Blut und die blutbildenden und zerstörenden Organe. Archiv f. mikroskop. Anatomie, 1902, Bd. 61.

Wendelstadt. Über die Wirkung von Malachitgrün und anderer verschiedenartiger Stoffe gegen Naganatrypanosomen bei weifsen Ratten. Deutsche med. Wochenschr., 1904, Nr. 47.

Erklärungen zu Tafel III.

Die Abbildungen entsprechen durch Auerlicht beleuchteten Präparaten, welche mit Alkohol absolutus fixiert und mit der älteren Giemsamischung gefärbt wurden.

Fig. 1. Geifselloses Trypanosoma in polychromatischem Blutkörperchen: Cadérasmaus, mit Trypanrot behandelt.

Fig. 2. Zentrosomen mit hellem Hof im polychromatischen Blutkörperchen eines gesunden Meerschweinchens.

Fig. 3. Blut einer weifsen Ratte, bei der durch Injektion einer Prodigiosusaufschwemmung nach hochgradiger Naganainfektion akute Besserung eingetreten war. Im untern dunklen polychromatischen Megalozyten aufser den Zentrosomen Reste des eigentlichen Kerns. Mehrere zu Halbmonden degenerierte, leicht bläuliche Erythrozyten; in einem noch deutliche Zentrosomen.

Fig. 4. In polychromatischem Blutkörperchen Dehlerscher Reifen, von der Seite gesehen (Achtform); an zwei Stellen punktförmige Verdickungen. Meerschweinchen im Beginn der spontanen Remission einer Cadérasinfektion.

Fig. 5. Dehlerscher Reifen, von der Fläche gesehen, einige Tage später. Polychromasie weniger ausgesprochen, Reifen dünner, mehr graurot.

Fig. 6. Durchschlüpfendes Tr. Brucei, Ratte.

Fig. 7. Durchschlüpfendes Tr. equinum, Maus. Einschnürung noch erheblicher, hochgradige Infektion, daher viele Granula im Parasiten.

Über das Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren.

Von

Dipl.-Ing. **Erich Hofstädter.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Technischen Hochschule zu Dresden.)

(Mit einer Tafel.)

Nicht in allen Fällen steht einem Gemeinwesen in hygienischer Beziehung einwandfreies Wasser zu Gebote, um damit den Bedarf seiner Bewohner an Trinkwasser zu decken. Sehr häufig mufs das Wasser, das aus Flüssen, Seen, Talsperren entnommen wird, vorher gereinigt werden, ehe es der Leitung übergeben werden kann. Diese Reinigung geschieht mit Hilfe von Filtern; sei es, dafs das Wasser grofse Sandfilter durchtreten mufs, ehe es in die Leitung kommt, sei es, dafs die Filtration erst im Hause selbst dadurch vor sich geht, dafs an dem Auslaufhahn kleine Filter angeschlossen werden. Von beiden Filterarten erwartet man, dafs sie alle auch die kleinsten suspendierten Substanzen, in erster Linie also die beigemischten Mikroorganismen zurückhalten.

Es hat sich nun herausgestellt, dafs diese Filter durchaus nicht in gleicher Weise arbeiten. Es kommt z. B. vor, dafs das eine Sandfilter drei Wochen und darüber ein gutes, keimarmes Filtrat liefert, während das andere, scheinbar in der gleichen Weise hergestellte, schon nach wenigen Tagen undicht wird. Diese und andere Erscheinungen lenkten die Aufmerksamkeit der Untersucher auf das Studium des Prozesses, der sich bei

der Filtration abspielt, und liefsen die Frage entstehen, auf welche Weise die Bakterien durch die Filter zurückgehalten werden.

Wir haben es den Untersuchungen von Fränkel und Piefke[3]) zu verdanken, dafs man heute wenigstens bei den Sandfiltern einigermafsen Klarheit über das Wesen dieses wichtigen Vorganges gewonnen hat. Als das Resultat dieser und anderer Untersuchungen hat sich vor allem herausgestellt, dafs die Wirkung der Sandfilter in hohem Mafse von dem Vorhandensein und der Beschaffenheit einer oberflächlichen Schlammschicht abhängig ist. Die Sandmassen allein sind nicht imstande, Bakterien zurückzuhalten, dazu sind die Poren, die sich zwischen den einzelnen Körnchen des Feinkieses befinden, viel zu grofs. Erst wenn diese durch Unreinigkeiten verschiedener Art, die im Wasser enthalten sind (Schlammteilchen, abgestorbene und aufgequollene Bakterienleiber), verengt sind und sich dadurch eine genügend dichte oberflächliche Schmutzhaut gebildet hat, wird das Filter wirksam.

Ein weiteres Haupterfordernis für ein günstiges Ergebnis der Sandfiltration ist das Einhalten einer gewissen, 100 mm pro Stunde nicht übersteigenden Filtriergeschwindigkeit. Wird ein Sandfilter zu stark beansprucht, so kann leicht ein Durchschwemmen der Bakterien stattfinden. Fränkel und Piefke[3]) haben bei ihren Untersuchungen gefunden, dafs Anfang und Ende einer jeden Filtrationsperiode besonders gefährliche Zeiten sind. Im ersteren Falle ist die Bildung der Schmutzhaut noch nicht genügend weit fortgeschritten, um den Bakterien den Durchgang zu verwehren. Im anderen Falle ist die Stärke derselben schon zu bedeutend, und es bedarf hoher Drucke, um überhaupt Wasser hindurchzubekommen. Als Folge davon kann leicht ein Durchpressen der Bakterien in die Tiefe oder ein Zerreifsen der Schlammschicht eintreten.

Aufser dieser Gefahr des Durchschwemmens der Bakterien tritt bei langer Dauer der Filtration noch die Möglichkeit hinzu, dafs ein Durchwachsen der Bakterien stattfindet. Bei langer Benutzung des Filters sammelt sich in den Poren desselben ge-

nügend Nährmaterial an, wodurch eine Vermehrung der Mikroorganismen ermöglicht wird.

Die Kleinfilter sollen den Konsumenten in die Lage setzen, aus dem ihm gelieferten, unvollkommen gereinigten Wasser vollkommen keimfreies Wasser herzustellen. Inwieweit sie dieser Anforderung gerecht werden, kann man aus den zahlreichen, in der Literatur behandelten Untersuchungen ersehen, die darüber ausgeführt worden sind. Ebenso wie bei den Sandfiltern gilt es heute als eine wissenschaftlich feststehende Tatsache, dafs die Kleinfilter auf die Dauer kein keimfreies Filtrat liefern.

Bei der grofsen Bedeutung der Kleinfilter in hygienischer Beziehung ist es nicht zu verwundern, dafs sich die Forschung in ausgedehntem Mafse dem Studium derselben widmete.

Es liegt mir fern, die Wirkungsweise und Anwendung der Kleinfilter zu kritisieren. Vielmehr veranlafst mich die heute noch in manchen Punkten zutage tretende Unklarheit über das Wesen der Filtration, das Verhalten der Bakterien bei diesem wichtigen Vorgange zum Gegenstand eines genauen Studiums zu machen. Über die Gröfse der Poren der Kleinfilter befindet man sich z. B. noch sehr im Unklaren. Es sind nach dieser Richtung bis jetzt aufser einer Arbeit von E. v. Esmarch[2]) keinerlei Untersuchungen angestellt worden. Und doch ist es von gröfstem Interesse, in dieser Beziehung genaue Anhaltspunkte zu gewinnen. Ich stellte mir daher die Aufgabe, das Hindurchgehen von Bakterien durch feinste Capillaren zu untersuchen. Bei den nahen Beziehungen, die zwischen den in der Literatur befindlichen Arbeiten und den von mir angestellten Untersuchungen bestehen, halte ich es für angebracht, die von den verschiedenen Forschern vertretenen Ansichten über Kleinfilter einer kurzen Betrachtung zu unterwerfen.

Zur Herstellung von Kleinfiltern hat man sich der mannigfachsten porösen Materialien bedient. In erster Linie kamen hierfür Stoffe in Betracht, deren wasserreinigende Wirkung bekannt ist, wie feiner Sand und Tierkohle. Auch verschiedene

Faserstoffe wie Watte und Cellulose wurden in komprimiertem Zustande verwendet. Über Filter aus letztgenannten Materialien hat W. Hesse[6]) Versuche angestellt. Er fand, dafs ihre Wirkung eine äufserst geringe war. Schon nach verhältnismäfsig kurzer Zeit zeigte sich ein massenhaftes Auftreten von Keimen im Filtrat. Bessere Resultate erzielte er mit Filtern, die aus Tierkohle und komprimiertem Asbest hergestellt waren. Sie hielten anfangs alle Keime zurück; erst nach einigen Tagen traten Bakterien im Filtrat auf. Von Interesse ist die von Hesse besonders bei Kohlefiltern gemachte Beobachtung, dafs nicht die allerkleinsten Bakterienarten zuerst im Filtrat erschienen, sondern ein schon etwas gröfserer Bazillus, der lebhafte Eigenbewegung besafs. Es berechtigt diese Erscheinung zu der Folgerung, dafs die Keime nicht passiv von der Filtrationsströmung durchgeschwemmt wurden, sondern aktiv durch das Filter hindurchgewachsen waren. Diese Annahme wird noch bestärkt durch die Wahrnehmung, dass nach einiger Zeit die Menge der im Filtrat enthaltenen Keime gröfser war als im Rohwasser. Ebenso wie bei der Sandfiltration nach längerer Betriebsdauer kann man auch hier auf eine Vermehrung der Bakterien im Filter selbst schliefsen. Die günstigsten Resultate erhielt W. Hesse[6]) mit Filtern aus stark komprimiertem Asbest. In einer späteren Arbeit[7]) beschreibt er eine Reihe von Versuchen, durch die er die Überlegenheit der von ihm vorgeschlagenen Asbestfilter über die Chamberland-Pasteurschen Tonfilter feststellt. Er behandelt eingehend den grofsen Einflufs verschieden hoher Drucke auf die Wirkung der Filtration und führt den Beweis, dafs eine Erhöhung des Druckes eine Verminderung der Leistungsfähigkeit zur Folge hat.

Weitere ausführliche Untersuchungen über Ton- und Asbestfilter wurden von Plagge[19]) angestellt. Nach ihm vermag die Mehrzahl der bekannten Hausfilter keineswegs längere Zeit die Bakterien zurückzuhalten. Es kann vielmehr der Keimgehalt des Filtrates nach längerer Zeit 100—1000 mal gröfser sein als der des Wassers vor der Filtration. Auch nach Plagge findet eine reichliche Vermehrung der Bakterien innerhalb des Filters selbst und ein Durchwachsen durch dieses statt.

Über die von Hesse[6]) vorgeschlagenen Asbestfilter und die Tonfilter verschiedener Konstruktion äufsert sich Plagge dahin, dafs sie in der Tat eine Zeit lang völlig keimfreies Wasser liefern, dafs dies aber auch nur eine vorübergehende Erscheinung sei.

Kübler[10]) stellte ebenfalls über die Leistungsfähigkeit des Pasteur-Chamberlandschen Tonfilters eine gröfsere Anzahl von Versuchen an. Er kam bei Anwendung aller Vorsichtsmafsregeln zu dem Resultat, dafs es nur sehr kurze Zeit, nämlich höchstens vier Tage vollkommen keimfreies Wasser liefert, und er fand in Übereinstimmung mit Plagge, dafs nach ca. acht Tagen im Filtrat mehr Keime enthalten waren als im Rohwasser. Die Menge des Filtrats liefs ebenfalls bedeutend nach, da sich auf der Oberfläche der Filterkerze eine dichte Schlammschicht bildete.

Aufser dem Pasteur-Chamberlandschen Tonfilter hat das aus gebrannter Infusorienerde hergestellte Berkefeld-Filter eine grofse Verbreitung gefunden und ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Die über die Leistungsfähigkeit dieses Filters, namentlich hinsichtlich seines Verhaltens gegenüber Typhus- und Cholerakeimen ausgesprochenen Meinungen sind derartig verschieden, dafs es von grofsem Interesse ist, kurz darauf einzugehen.

Hierbei ist allerdings die Ansicht Plagges zu erwähnen, die besagt, dafs eine Unterscheidung der Keime in pathogene und nicht pathogene bei der Filtration zunächst nicht in Betracht komme. Er findet keine Erklärung dafür, dafs ein Filter pathogene Keime zurückhalten und nicht pathogenen Keimen den Durchgang gestatten sollte.

M. Kirchner[8]) sprach die Behauptung aus, dafs die genannten Kleinfilter keineswegs für die pathogenen Keime undurchlässig seien. Er führte seine Versuche derart aus, dafs er dem Rohwasser Typhus- bzw. Cholerakeime enthaltende Nährbouillon zusetzte. Es gelang ihm schon nach kurzer Zeit der Nachweis der betreffenden pathogenen Keime im Filtrat. Dieses Ergebnis führte ihn zu einer strengen Verurteilung der Kleinfilter.

Der von M. Kirchner ausgesprochenen Meinung treten M. Gruber[4]) und H. Schöfer[21]) mit Entschiedenheit entgegen. Sie stellen die Behauptung auf, dafs nur durch Zusatz von Nährlösung zum Rohwasser ein Durchwachsen von Typhus- und Cholerakeimen möglich sei.

Die Ernährungsansprüche dieser pathogenen Keime seien mit denen der gewöhnlichen Wasserbakterien nicht zu vergleichen. Nach Gruber können nur solche Bakterienarten durch die Filter hindurchwachsen, die in den Poren die Bedingungen für ihre Vermehrung vorfinden. Bei den gewöhnlichen Wasserbakterien ist dies der Fall, was durch die Tatsache bewiesen wird, dafs sie oft im Filtrat in gröfserer Menge vorhanden sind als im Rohwasser. Für Typhus- und Cholerakeime ist nach Gruber das Wasser eine viel zu schlechte Nährflüssigkeit, und es ist aus diesem Grunde ihre Vermehrung im Filter unmöglich. Infolgedessen ist ein Durchwachsen dieser pathogenen Keime unter gewöhnlichen Umständen gänzlich ausgeschlossen. Schöfer stellte seine Versuche mit Typhus- und Cholerabazillen zum Unterschied von Kirchner derart an, dafs er nicht Aufschwemmungen in Nährbouillon, sondern in sterilem Leitungswasser benutzte. Er fand, dafs die betreffenden Keime im Filtrat nicht erschienen; wohl aber trat dies sofort ein, wenn er dem Rohwasser Nährlösung zusetzte. Es wurde dadurch die Bedingung zur Vermehrung im Filter erfüllt, und die Folge war ein Auftreten der Typhus und Cholerakeime im Filtrat. Beide verschwanden aber, sobald die Nährlösung durch Auswaschen entfernt war.

Diese von Gruber und Schöfer vertretene Ansicht wird durch Versuche von Lübbert[12]) bestätigt, der dem Rohwasser Reinkulturen pathogener Keime zusetzte und nachwies, dafs sie nicht ins Filtrat übergingen. Die Verschiedenheit der von zahlreichen Forschern gemachten Angaben über die Zeit, während welcher ein Filter keimfreie Filtrate liefert, ist nach Schöfer zurückzuführen auf den grofsen Einflufs, den die Temperatur ausübt. Wurde von den Beobachtern Wasser von Zimmertemperatur zu den Versuchen benutzt, so zeigte sich, dafs schon nach einigen Tagen der Keimgehalt des Filtrates rasch anstieg.

Wandte man aber Wasser von niederer Temperatur an, so erhielt man mehrere Wochen hindurch keimfreie Filtrate. Die Ursache hiervon ist wiederum in den Lebensbedingungen der Bakterien zu suchen. Durch höhere Temperaturen wird ihre Vermehrung in hohem Mafse begünstigt, durch niedere jedoch verhindert.

E. v. Esmarch[2]) fand, dafs die bekannten Filterarten, selbst wenn sie sämtliche gröfseren Bakterien mit Sicherheit zurückzuhalten vermögen, keineswegs als keimdicht zu bezeichnen sind, weil sie von den kleinsten, mit den besten Mikroskopen nicht erkennbaren Bakterien mit Leichtigkeit durchdrungen werden.

Aus der von vielen Forschern festgestellten Tatsache, dafs die Filterwände von den Bakterien unter geeigneten Umständen in verhältnismäfsig kurzer Zeit durchdrungen werden, kann man den Schlufs ziehen, dafs die Poren der Filter bedeutend gröfser sind als die Durchmesser der Bakterien. Nach Möller[15]) müssen Filter, die dauernd keimdicht bleiben sollen, Poren haben, die kleiner sind als die kleinsten Keime, und er glaubt, dafs man dies mit komprimiertem Asbest oder Ton erreichen kann. Man vertritt heute die für die Theorie der Filtration wichtige Ansicht, dafs die Zurückhaltung der Bakterien in einem Filter nicht durch die Feinheit der Poren, sondern durch Flächenattraktion bewirkt wird. Man stellt sich vor, dafs, ebenso wie bei den Sandfiltern die oberflächliche Schlammschicht die Wirksamkeit des Filters ausmacht, bei den Kleinfiltern die Bakterien sich an der Oberfläche anlagern.

Angesichts dieser verschiedenen Ansichten über das Hindurchtreten von Bakterien durch Filter ist es von Interesse zu untersuchen, wie eng Kapillaren sein müssen, damit Bakterien durch sie nicht mehr hindurchzugehen vermögen, und die Kapillaren dann mit Schliffen von Filterkerzen zu vergleichen.

Es lag mir nun in erster Linie daran, sicheren Aufschlufs über die Gröfse der Poren verschiedener Kleinfilter zu erlangen. Zu diesem Zwecke verschaffte ich mir eine gröfsere Anzahl Filterkerzen, und zwar: 1. Tonfilter von der Kgl. Porzellanmanufaktur, Berlin, 2. Tonfilter von Haldenwanger, Charlottenburg, 3. Berkefeldsche Kieselguhrfilter. Die ersteren beiden besafsen die von

Pukall[20]) angegebene und wegen ihrer grofsen Oberfläche als am vorteilhaftesten gepriesene Ballonform. Die geringe Widerstandsfähigkeit der Chamberland-Pasteurschen Filter veranlafste Pukall in dieser Richtung Versuche anzustellen. Durch geeignete Mischung verschiedener Kaoline, und namentlich durch Anwendung höherer Temperaturen beim Brennen gelang es ihm, ein Filter von gröfster Haltbarkeit herzustellen. Er war der Meinung, dafs dasselbe nach seinem physikalischen Verhalten Poren von gröfster Feinheit haben müfste.

Die von zahlreichen Forschern bis jetzt angestellten Untersuchungen wurden alle in der Absicht ausgeführt, den praktischen Wert der Kleinfilter zu prüfen. Es lag mir fern und wäre zwecklos gewesen, mit den Zellen Filtrationsversuche auszuführen, sondern ich wollte einzig und allein rein theoretische Untersuchungen darüber anstellen, in welchen Zeiten die Zellen von verschiedenen Bakterienarten durchdrungen würden. Es handelte sich zuerst um die passende Wahl der Bakterien, die bei den Versuchen zur Anwendung gelangen sollten. Da für mich nur Reinkulturen in Betracht kamen, und ich die Anwesenheit anderer Bakterien bei den Versuchen strengstens vermeiden wollte, kamen in erster Linie Bakterienarten in Betracht, die sich mit grofser Leichtigkeit nachweisen lassen. Es sind dies vor allem die Farbstoff bildenden Bakterien. Da aufserdem ein schnelles und üppiges Wachstum der betreffenden Bakterien erwünscht war, so wählte ich für meine Versuche Bacillus prodigiosus und Bacillus fluorescens longus. Den ersteren züchtete ich auf Agar, den letzteren auf Gelatine. Aufser diesen beiden sehr kleinen Bakterienarten wählte ich zu meinen Versuchen als gröfseren den Heubazillus, der durch seine charakteristische Wuchsform leicht zu erkennen ist.

Von Kokken, deren Verhalten Kapillaren gegenüber ebenfalls von Interesse schien, wählte ich zwei Arten. Die einen hatte ich aus Ingwerwurzel isoliert, die anderen waren grofse gelbe Kokken.

Die Versuche stellte ich in der folgenden Weise an. Die Zellen wurden durch wiederholtes Auskochen in destilliertem

Wasser gereinigt und durch Erhitzen in strömendem Wasserdampf sterilisiert. Die Berkefeld-Zellen mufsten wiederholt mit einer Bürste abgerieben werden, da sich von denselben ein feiner Schlamm loslöste, der während des Versuches die Nährlösung trübte und ein genaues Beobachten der Versuche auf das Wachstum von Bakterien hin sehr erschwerte.

Um während der Versuche die Zellen vollkommen steril aufzubewahren, traf ich die Fig. 1 dargestellte Anordnung. Ich setzte die Zelle in ein dünnwandiges Becherglas und überspannte dieses mit einer Gummikappe, durch deren Mitte ich mit einer Nadel ein Loch stiefs und eine bis in die Zelle reichende, am unteren Ende spitz ausgezogene Glasröhre hindurchsteckte. Letztere wurde oben mit einem Wattebausch verschlossen. Die zu den Versuchen benutzte Nährlösung bestand aus 1 proz. Fleischextraktbouillon mit Zusatz von 1 % Pepton und 0,5 % Kochsalz. Bei den Versuchen mit Heubazillus nahm ich an Stelle der Bouillon Nährgelatine aus Fleischwasser, in der er besser wuchs.

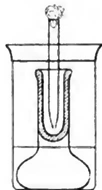


Fig. 1.

Der Apparat wurde nun soweit mit Nährlösung gefüllt, dafs nur der ballonförmige Teil der Zellen davon bedeckt wurde. Hierauf erfolgte durch ½ stündiges Erhitzen im strömenden Dampf die Sterilisation des Apparates, und nach dem Abkühlen wurde durch das Glasrohr das Bakterienmaterial in das Innere der Zelle gebracht. Es geschah dies in der Weise, dafs ich der Reinkultur der betreffenden Bakterienart eine grofse Öse entnahm, diese in 10 ccm sterile Bouillon brachte und damit gehörig vermengte. Die so hergestellte Aufschwemmung füllte ich mittels einer sterilen Pipette in das Innere der Zelle. Die Pipetten stellte ich mir durch Ausziehen von Glasröhren her und benutzte sie nur zu einem Versuche. Die so geimpften Zellen wurden in dem Brütschrank einer Temperatur von ca. 35° C ausgesetzt und täglich nachgesehen, ob die aufsen befindliche Nährlösung noch vollkommen klar war, also die Wandung der betreffenden Zelle von Bakterien durchdrungen worden war oder nicht. Zeigte sich

bei einem Apparate eine deutliche Trübung der Nährlösung, so wurde er auseinandergenommen und der Nachweis geführt, dafs die bei dem Versuche zur Anwendung gekommene Bakterienart auch wirklich in Reinkultur vorhanden war.

Bei der von mir getroffenen Anordnung der Versuche, insbesondere des Abschlusses der Zellen, ist eine Infektion durch andere Keime von aufsen her nicht ein einziges Mal eingetreten. Wohl aber stellten sich mir grofse Schwierigkeiten in den Weg bei der Sterilisation der schon zu einem Versuche benutzten Zellen. Da es vor allem in bezug auf die Genauigkeit der Resultate interessant war, zu erfahren, in welchen Zeiten ein und dieselbe Zelle von verschiedenen Bakterienarten durchdrungen würde, machte sich eine gründliche Reinigung der schon benutzten Zellen erforderlich. Zu diesem Zwecke wässerte ich letztere zunächst wiederholt in destilliertem Wasser, um die Nährlösung aus den Poren zu entfernen, und setzte mittels Gummistopfens ein ca. 1,5 m langes Trichterrohr auf die Zellen, um Wasser durch deren Wandungen treiben zu können. Darauf wurden die Zellen ca. 2 Stunden lang ausgekocht und nun zu anderen Versuchen benutzt. Sehr oft trat nach 1—2 Tagen in den z. B. mit Kokken und Bacillus fluorescens angesetzten Apparaten bereits starkes Wachstum ein. In allen Fällen war es ein gröfserer, Gelatine verflüssigender Bazillus, der sich hier eingeschlichen hatte. Die Zellen wurden darauf wieder gewässert und im Autoklaven 1 Stunde auf 110° erhitzt, doch auch das erwies sich als ungenügend, und erst nach 2stündigem Erhitzen bei 1 Atm. im Autoklaven waren die Zellen vollkommen steril.

Tabelle I.

Angabe der Tage, innerhalb welcher die Bakterien durch die Zellen hindurchtraten.

	Haldenw.-Z.	Berliner.-Z.	Berkefeld-Z.
Bac. prodigiosus . . .	2	2	3
Bac. fluorescens . . .	5	5	9
Heubazillus	—	—	—
Gelbe Kokken	—	—	—
Ingwer-Kokken	14	14	25

Heubazillen und gelbe Kokken waren innerhalb von 30 Tagen noch nicht hindurchgetreten. Der Versuch wurde dann abgebrochen.

Aus dieser Zusammenstellung ersieht man einen bedeutenden Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Bakterienarten. Bacillus prodigiosus durchdringt die Zellen am schnellsten. Es ist dies wahrscheinlich durch seine äufserst geringe Gröfse und vor allem durch seine lebhafte Eigenbewegung zu erklären. Prodigiosus am nächsten steht Fluorescens. Er zeichnet sich ebenfalls durch schnelle Eigenbewegung aus, ist aber immerhin beträchtlich gröfser als Prodigiosus, braucht infolgedessen auch längere Zeit zum Durchwachsen. Die gröfste von mir angewandte Bakterienart, der Heubazillus, durchdrang die Zellen trotz ausgezeichneten Nährbodens selbst in 30 Tagen nicht. Wegen seiner schnellen Bewegungsfähigkeit könnte man zu dem Glauben neigen, dafs er in verhältnismäfsig kurzer Zeit die Zellen durchwandern würde. Doch es ist hier seine bedeutende Länge und vor allem die für ihn charakteristische Kettenbildung, die oft ganz beträchtliche Ausdehnung erreicht, in Betracht zu ziehen. Eine weitere Erklärung findet man in dem Vergleich der mit Prodigiosus, Fluorescens und Heubazillus angesetzten Bouillonkulturen. Während man bei den ersteren beiden eine äufserst starke Trübung der Nährlösung wahrnimmt, ist die durch den Heubazillus hervorgerufene nur sehr gering, und nur die auf dem Boden sich ansammelnden Flocken lassen deutlich das Wachstum desselben erkennen.

Von Interesse ist ferner der in dem Verhalten der beiden Kokkenarten zutage tretende Unterschied. Die gelben Kokken durchdringen trotz starken Wachstums selbst in 30 Tagen nicht die Zellen, während die Ingwer-Kokken schon in 14 Tagen die Tonzellen durchwandern. Bei allen mit den gelben Kokken von mir angestellten Versuchen war im Innern der Zellen ein starker Bodensatz zu bemerken, und die Nährlösung war gänzlich in Fäulnis übergegangen, während aufsen nicht die geringste Trübung wahrzunehmen war.

In bezug auf die Dauer der Versuche war ich der Meinung, dafs die Frist von 30 Tagen eine genügend lange sei. Den betreffenden Bakterienarten waren die günstigsten Bedingungen für schnelles Wachstum und reichliche Vermehrung gegeben, und es wäre unter diesen Umständen überflüssig gewesen, die Dauer der betreffenden Versuche noch länger auszudehnen.

Deutlich werden die Resultate auch beeinflufst durch die Stärke der Zellwand und deren mehr oder weniger dichtes Gefüge. Die Haldenwangersche war ungefähr doppelt, die Berkefeldsche ziemlich dreimal so stark als die Berliner-Zelle. Während dies beim Prodigiosus von ganz geringem Einflusse ist, tritt es beim Fluorescens schon deutlicher zutage und der gröfste Unterschied besteht bei den Ingwer-Kokken. Fluorescens braucht zum Durchwachsen der Berkefeld-Zelle 4 Tage, die Ingwer-Kokken 10 Tage mehr Zeit als zur Durchdringung der Tonzellen.

Die weitere Aufgabe bestand darin, genaue Kenntnis über die Gröfse der Poren der verschiedenen Zellen zu erlangen. Die einzige Möglichkeit, dies zu erreichen, bestand in der Anfertigung von Dünnschliffen. In der Mineralogie bedient man sich bekanntlich dieser Methode, um das Gefüge poröser Gesteine, Schlacken usw. näher zu studieren, und die Gestalt und Gröfse der in ihnen vorkommenden Hohlräume kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurden die Zellen zertrümmert, zum Schleifen geeignete Stücke herausgesucht und sorgfältig getrocknet. Letztere wurden in Kanadabalsam gekocht, um die Poren damit auszufüllen und ein Verstopfen derselben beim Schleifen durch Schmirgel usw. zu verhindern. Das so behandelte Stück der Tonzelle wurde auf einen Objektträger mit Kanadabalsam aufgekittet, nachdem an ihm eine ebene Fläche erzeugt worden war, und mit der Hand ein Schliff von möglichster Feinheit hergestellt. Es ergab sich bei der Betrachtung der so gewonnenen Dünnschliffe unter dem Mikroskop die überraschende Tatsache, dafs die Poren der Zellen mitunter von bedeutender Gröfse waren, und dafs zwischen den drei verschiedenen von mir benutzten Arten in dieser Hinsicht nur ein verhältnismäfsig geringer Unterschied bestand. In bezug auf die Anzahl der Poren stand die

Berkefeld-Zelle obenan, während die Berliner-Zelle nur äufserst wenig grofse Poren aufwies, überhaupt ein viel dichteres Gefüge zeigte. Die auf Tafel IV bei 50facher Vergröfserung dargestellten Abbildungen der Zellschliffe lassen diesen Unterschied deutlich erkennen. Die Dimensionen der gröfsten in den einzelnen Dünnschliffen gemessenen Hohlräume will ich in der folgenden Übersicht in μ angeben.

Tabelle II.

Dimensionen der gröfsten Poren (in μ).

Haldenw.-Z.		Berliner-Z.		Berkefeld-Z.	
L.	B.	L.	B.	L.	B.
100	100	40	75	100	100
60	100	40	60	90	90
50	75	25	30	75	100

Die Vermutung, dafs diese Hohlräume durch unvorsichtige Behandlung des höchst empfindlichen Materials beim Schleifen entstanden sein könnten, ist gänzlich ausgeschlossen, da der Schliff nach dem Schleifen eine spiegelglatte Oberfläche hatte, und etwaige Sprünge oder gar Lücken selbst bei genauester Betrachtung nicht zu bemerken waren.

Bei dem Vorhandensein derartig grofser Hohlräume in den Wandungen der Zellen kann man mit Sicherheit annehmen, dafs in ihnen eine Vermehrung der Bakterien stattfindet. Dies wäre festgestellt durch die Herstellung von gefärbten Präparaten. Ich wurde hauptsächlich durch den Erfolg der von Miller[14]) angestellten Untersuchungen über die in zerstörtem Zahnbein enthaltenen Bakterien veranlafst, die nämliche Färbung bei den Tonzellen anzuwenden. Miller stellte aus dem Zahnbein feine Schliffe her, färbte die darin enthaltenen Bakterien nach einer besonderen Methode, und es gelang ihm auf diese Weise, über die Anordnung der Bakterien genauen Aufschlufs zu erhalten. Um die Bakterien in Dünnschliffen von Filtern sichtbar zu machen, filtrierte E. v. Esmarch[2]) durch die betreffenden Filter

ca. 5—10 Minuten lang wässerige Fuchsinlösung. Es gelang mir durch eine derartige einfache Färbung nicht, befriedigende Resultate zu erzielen.

Gröfsere Anhäufungen von Bakterien waren deutlich zu erkennen, vereinzelte Bakterien hingegen traten gegenüber stark gefärbten Partien der Zellmasse vollkommen zurück. Ich hielt aus dem Grunde eine Entfärbung der Zellmasse durch Anwendung der Gramschen Färbungsmethode für unbedingt erforderlich. Nach einigen mifslungenen Versuchen, Bacillus fluorescens und prodigiosus in den Schliffen zu färben, setzte ich einige Haldenwangersche Zellen an, in deren Inneres ich faule Bouillon brachte, in welcher, wie ich mich vorher überzeugt hatte, ein gröfserer, nach Gram gut färbbarer Proteus ähnlicher Bazillus, in einem andern Fall eine gröfsere Kokkenart in Menge vorhanden war. Nach ca. 8 Tagen wurden von den Zellen Schliffe angefertigt, die ich nach der Günther-Gramschen Methode färbte. Der Kanadabalsam wurde, wie oben, aus dem Schliff entfernt, und dieser darauf ca. $^1/_4$ Stunde lang in die Farbstofflösung gelegt, die aus 1 Teil konzentrierter alkoholischer Gentianaviolettlösung und 9 Teilen Anilinwasser bestand. Darauf kam der Schliff einige Minuten in Jod-Jodkaliumlösung und wurde dann solange in oft erneuerten Alkohol gelegt, bis keine Farbwolken mehr aufstiegen. Nach dem Aufhellen in Xylol bettete ich den Schliff in Kanadabalsam ein.

Die so erhaltenen Präparate, von denen auf Tafel IV, Fig. 5 und 6, einige Ansichten abgebildet sind, gaben ein deutliches Bild von der Anordnung der Bakterien. An manchen Stellen waren gröfsere Anhäufungen derselben wahrzunehmen, aber auch auf der übrigen Fläche waren sie in mehr oder weniger grofser Zahl vorhanden. Die letztere Beobachtung läfst auf das Vorhandensein von vielen feinen Poren schliefsen, die nur bei Schliffen von allergröfster Feinheit zutage treten würden.

Durch die Herstellung dieser Präparate gelang mir also der Nachweis, dafs die ganze Zellwandung von Bakterien durchsetzt ist und besonders in den gröfseren Poren eine Anhäufung derselben stattfindet.

Nachdem ich das Verhalten einiger Bakterienarten gegen die Kleinfilter festgestellt und durch die Anfertigung von Dünnschliffen und gefärbten Präparaten einigermafsen Klarheit über die Beschaffenheit der Poren von Kleinfiltern gewonnen habe, will ich nun zum Hauptteil meiner Arbeit, dem Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren übergehen. Zuvor will ich noch eine kurze Übersicht über die Untersuchungen geben, die bereits über das Eindringen von Bakterien in Kapillaren angestellt worden sind. In erster Linie sind hier die ausgedehnten Untersuchungen zu erwähnen, die Pfeffer[16])[17]) ausführte, um die durch chemische Reize hervorgerufenen Richtungsbewegungen von Bakterien und anderen Mikroorganismen kennen zu lernen, und vor allem um die Reizschwellen festzustellen.

Die Methode, deren sich Pfeffer[16]) bei seinen zahlreichen Versuchen bediente, bestand darin, dafs er 7—12 mm lange Glaskapillaren, die meist innere Durchmesser von 0,1—0,14 mm und 0,03—0,04 mm hatten, zum Teil mit der zu untersuchenden Flüssigkeit anfüllte. Es geschah dies derart, dafs er die Kapillaren auf einer Seite zerschmolz, in ein Uhrglas mit der betreffenden Lösung brachte und letztere durch Evakuieren unter der Luftpumpe ca. 2–4 mm weit einsaugte. Die Kapillaren wurden darauf sorgfältig mit Wasser abgespült und unter dem Mikroskop zu dem geimpften Wassertropfen geschoben. Auf zwei Papierstreifen legte Pfeffer ein Deckglas über den Tropfen, um ein zu schnelles Verdunsten desselben zu verhindern. Zuerst untersuchte Pfeffer das Verhalten der Samenfäden von Farnkräutern, die mit lebhafter Eigenbewegung ausgestattet sind, gegen 0,01- bis 0,5 proz. Lösungen von Apfelsäure. Es zeigte sich, dafs schon nach kürzester Zeit ein zahlreiches Einwandern derselben in Kapillaren stattfand. Die Samenfäden änderten ihre Bewegungsrichtung und bewegten sich nach der Öffnung der Kapillare hin. Enthielt das Wasser nicht eine zu grofse Anzahl davon, so waren mitunter nach ca. 1 Stunde fast alle in das Innere der Kapillare eingedrungen. Mit fortschreitender Diffusion der Apfelsäure nahm die durch sie hervorgerufene Reizwirkung ab. Selbst eine

0,001 proz. Lösung von Apfelsäure rief noch einen deutlich wahrnehmbaren Reiz hervor.

In bezug auf meine Untersuchungen sind die von Pfeffer über das Verhalten der Bakterien angestellten Versuche von weit gröfserem Interesse. Die von ihm zuerst benutzten Arten waren ein gewöhnlicher Fäulnisbazillus und Spirillum undula. Allerdings wandte er diese nicht in Reinkultur an, sondern er hatte ein Gemenge mehrerer Arten, und er benutzte die Flüssigkeit erst dann, wenn die zu untersuchende Art in ihr das Übergewicht hatte. Die Kapillaren von 0,025—0,05 mm inneren Durchmesser wurden mit 1 proz. Fleischextrakt- oder 1 proz. Asparaginlösung zum Teil angefüllt. Wurden sie zu dem die betreffende Bakterienart enthaltenden Tropfen geschoben, so fand eine massenhafte Ansammlung um die Öffnung der Kapillare und ein zahlreiches Eindringen in diese statt. Aufserdem war nach kurzer Zeit am Ende der Flüssigkeitssäule in den Kapillaren eine reichliche Anhäufung von Bakterien zu bemerken, wohin sie aus Verlangen nach Sauerstoff gewandert waren. Beobachtete er das Verhalten an der Öffnung der Kapillaren, so konnte er ein Anstofsen mancher Bakterien an den Rand der Öffnung und eine dadurch hervorgerufene Ablenkung von der Richtung in das Innere der Kapillare feststellen. Begreiflicherweise ist die Möglichkeit des Anstofsens der Bakterien um so gröfser, je enger man die Kapillaren wählt, und infolgedessen wird die Zahl der in die letzteren eindringenden Bakterien mit der Verringerung der Weite ebenfalls abnehmen.

Als Resultat seiner Untersuchungen fand Pfeffer, dafs die Bakterien durch die verschiedensten Nährstoffe angelockt, durch zu hohe Konzentration derselben aber abgestofsen wurden.

Die in seiner zweiten Arbeit[17]) beschriebenen Versuche unterscheiden sich von den eben besprochenen besonders durch die Anwendung von Reinkulturen. Die Weiten der von ihm benutzten Kapillaren waren ungefähr dieselben wie vorher:

0,03—0,06 mm für kleine Bakterien,
0,05—0,08 » » gröfsere »
0,06—0,12 » » gröfsere Organismen.

Ihre Länge betrug ebenfalls 4—7 mm. Die Kapillaren wurden vorher mit der Versuchsflüssigkeit ausgewaschen, indem sie gefüllt und durch entsprechendes Evakuieren 1—2 mal ausgesaugt wurden.

Bei gröfseren Organismen benutzte Pfeffer 30—70 fache, bei kleineren 100—200 fache Vergröfserung. Mit verschiedenen Bakterienarten bestimmte Pfeffer die Reizwirkungen von zahlreichen anorganischen und organischen Verbindungen. Es gelang ihm die genaue Feststellung der Reizschwelle und die Auffindung der diese Vorgänge beherrschenden Gesetzmäfsigkeiten. Die verschieden starke Reizbarkeit der Bakterien ermöglichte es ihm, eine wenn auch nicht ganz genaue Trennung verschiedener in einem Gemisch enthaltener Bakterienarten auszuführen. Eine empfindliche Art liefs sich in eine Kapillare schon durch schwache Reizmittel einfangen, die auf weniger empfindliche Arten noch keinen Reiz ausübten.

Es hätte mich zu weit geführt, wenn ich diese von Pfeffer angestellten chemotaktischen Untersuchungen in ebenso ausgedehnter Weise mit feineren und allerfeinsten Kapillaren wiederholt haben würde. Für mich hatte nur die Beantwortung der Frage Bedeutung, ob die Bakterien, durch ihnen dargebotene Nährstoffe angelockt, auch in die feinsten Kapillaren eindringen. Bevor ich zur Beschreibung der von mir in dieser Richtung angestellten Versuche übergehe, will ich einige Worte über die Wahl des Glases und die Art und Weise der Herstellung der feinsten Kapillaren vorhergehen lassen.

Die Wahl des Glases.

Anfangs benutzte ich zur Herstellung der Kapillaren Röhren von gewöhnlichem Glas. Da aber bei einer Reihe von Versuchen die Nährlösung wochenlang mit dem Glase in Berührung blieb und ein schädigender Einflufs des letzteren das Resultat in hohem Mafse beeinträchtigt hätte, war es ausgeschlossen, die Kapillaren ohne weitere Behandlung zu den Versuchen zu benutzen. Ich hatte deshalb die Absicht, die von mir hergestellten feinsten Kapillaren, deren feinste einen Durchmesser von nicht ganz

$^1/_{1000}$ mm besafsen, vor dem Gebrauch einer gründlichen Reinigung zu unterziehen. Sie sollten mit verdünnter Schwefelsäure zwecks Entfernung der anhaftenden Alkalien behandelt, darauf mit destilliertem Wasser ausgespült und bei höherer Temperatur getrocknet werden. Der Versuch lehrte aber, dafs die Ausführung dieser Reinigung mit den gröfsten Schwierigkeiten verbunden, ja geradezu unausführbar zu nennen ist. Um die in die Kapillare eingesaugte Schwefelsäure wieder zu entfernen und mit destilliertem Wasser jegliche Spuren davon auszuwaschen, bedarf es der Anwendung sehr hoher Drucke. Und selbst bei der Benutzung derartig hoher Drucke würde es lange Zeit dauern, ehe genügend Wasser durch die Kapillaren hindurchgeprefst worden wäre, um die letzten Reste der Schwefelsäure zu entfernen.

Aus diesen Gründen mufste ich von einer vorherigen Reinigung der Kapillaren und damit auch von einer Benutzung des gewöhnlichen Glases absehen. Ich wählte nun zu meinen Versuchen eine Glassorte, deren hoher Wert für bakteriologische Zwecke schon von verschiedenen Seiten bestätigt worden ist, nämlich das Schottsche Borosilikatglas 59 III. In neuester Zeit führte G. Hesse[5]) Versuche über die Alkaliabgabe verschiedener Gläser aus. Er fand, dafs die Wahl des Glases von grofsem Einflusse auf das Wachstum der Bakterien ist. Nach Hesse kommen im Jenaer Normalglas ungefähr 5—6 mal soviel Keime zur Entwicklung als in gewöhnlichen Gläsern. Ganz besonders günstige Resultate erzielte er aber mit dem wegen seiner äufserst geringen Alkaliabgabe bekannten Schottschen Borosilikatglas 59 III. In Gläsern aus diesem Material hergestellt wuchsen ca. 20—30 % mehr Keime aus als in den gewöhnlichen Jenaer Gläsern. Im Vergleich zu den gewöhnlichen Glassorten sind die Vorzüge dieses Glases ganz bedeutend, und aus diesem Grunde glaubte ich es ohne Bedenken bei meinen Versuchen anwenden zu dürfen.

Die Herstellung der Kapillaren.

Zur Ausführung meiner Versuche brauchte ich Kapillaren von gröfster Feinheit. Der innere Durchmesser der feinsten durfte nicht ganz $^1/_{1000}$ mm betragen. Aufserdem waren aber auch weitere

Kapillaren, deren Durchmesser einige $^1/_{1000}$ mm bis mehr als $^1/_{100}$ mm betrugen, erforderlich.

Von dem Schottschen Borosilikatglas 59 III beschaffte ich mir eine gröfsere Anzahl Stabröhren von kleinstem inneren Durchmesser. Der äufsere Durchmesser derselben schwankte zwischen 4—6 mm, die Öffnung der Kapillaren war gerade noch mit blofsem Auge wahrzunehmen und betrug ca. $^1/_{10}$ mm und darunter. Aus diesen Stabröhren stellte ich mir die Kapillaren auf folgende Weise her. Ich schnitt aus ihnen Stücke von ca. 12 cm Länge, fafste die Enden eines Stückes mit den Händen und erhitzte die Mitte unter beständigem Drehen in der heifsen Flamme einer Gebläselampe. Wurde das Glas rotglühend und fing an zu erweichen, so liefs ich im richtigen Augenblick von einer anderen Person das eine Ende fassen und nahm das Rohr aus der Flamme, nachdem ich dem Betreffenden ein Zeichen gegeben hatte, sich möglichst schnell damit zu entfernen. Das Gelingen hing lediglich von dem rechtzeitigen Herausnehmen aus der Flamme und dem unmittelbar darauf durch den schnellen Lauf der anderen Person in entgegengesetzter Richtung bewirkten Ausziehen ab. Bei der schweren Schmelzbarkeit und Zähigkeit des Barosilikatglases in erweichtem Zustande war ein starkes und langes Erhitzen nötig und es erforderte längere Übung, ehe befriedigende Erfolge erzielt wurden.

Das Sortieren der Kapillaren.

Auf diese Weise erhielt ich Kapillarfäden von ca. 1,5 m Länge, an deren Enden sich noch die Stücke der Stabröhren befanden. Die Stärke der so erhaltenen Kapillaren war äufserst gering, sie betrug im Durchschnitt 0,2—0,4 mm. Das Umgehen damit erforderte aus dem Grunde grofse Vorsicht. Die Messung und das Sortieren der Kapillaren geschah auf folgende Weise.

Die Hauptlänge, nicht ganz $^2/_3$ des durch das Ausziehen erhaltenen Kapillarfadens, war von ungefähr gleichem inneren und äufseren Durchmesser. Die stärkeren, an den Enden befindlichen Teile wurden entfernt und das mittlere Stück in Längen von 10—12 cm zerteilt; doch geschah dies nicht auf einmal,

sondern nachdem der innere Durchmesser des vorhergehenden festgestellt war. Zu diesem Zwecke wurden die Enden des betreffenden Stückes vorsichtig durch kurze Berührung mit der Sparflamme eines Bunsenbrenners zugeschmolzen, um jegliche Verunreinigung des Kapillarinnern durch Immersionsöl usw. auszuschliefsen. Darauf wurde der Kapillarfaden auf einen Objektträger gelegt, in der Mitte mit einem Tropfen Zedernöl versehen und mit der Ölimmersion unter Benutzung eines Okularmikrometers der Durchmesser der Kapillare gemessen. Da zwischen 2—3 Stücken ein nennenswerter Unterschied in der Gröfse des Durchmessers nicht bestand, war es unnötig, alle Stücke einer Messung zu unterwerfen. Die Entfernung des Immersionsöles geschah durch Reinigung der Kapillare mit Benzin und Alkohol.

Die gemessenen Stücke wurden in Reagensgläsern aufbewahrt, die zum Schutze gegen Staub mit Wattestopfen versehen waren. Es gelang mir durch lange fortgesetztes Ausziehen von Kapillaren eine Sammlung der verschiedensten Gröfsen zu erhalten, was für die Ausführung meiner Versuche von gröfstem Wert war. Es waren z. B. Gröfsen von 0,3—2,0 μ aufwärts vorhanden, die sich nur durch $^3/_{10}$ μ unterschieden. Weitere Kapillaren bis ca. 20 μ waren nach Unterschieden von 1,5 μ geordnet.

Die genaue Messung.

Die von mir soeben beschriebene Methode der Messung der Kapillaren war nur eine oberflächliche, deren ich mich nur deshalb bediente, weil es mir in der Hauptsache darauf ankam, die beim Ausziehen erhaltenen Stücke möglichst schnell nach ihrem inneren Durchmesser zu sortieren. Bei den für bestimmte Versuche benutzten Kapillaren bedurfte es allerdings einer weitaus gröfseren Genauigkeit der Messung.

Wegen der Verschiedenheit der Brechungsexponenten des Glases 59 III und des Zedernöles entsprachen die derart erhaltenen Werte nicht ganz der wirklichen Weite. Es war also unbedingt erforderlich, ein Immersionsöl anzuwenden, das den gleichen Brechungsexponenten wie das Borosilikatglas besafs.

Von Schott u. Gen., Jena, wurde mir der Brechungsexponent dieses Glases als

$$n_{Na} = 1{,}4967$$

angegeben. Flüssigkeiten, deren Brechungsexponenten dem angegebenen am nächsten kommen, sind chemisch reines Toluol und Ortho-Xylol mit folgenden Brechungsexponenten:

$$\overset{T}{20^0} \text{ Toluol } n_{Na} = 1{,}4955,$$
$$18^0 \text{ o-Xylol } n_{Na} = 1{,}4966.$$

Es gelang mir, beide Flüssigkeiten in chemisch reinem Zustande zu bekommen. Bei der ziemlichen Übereinstimmung ihrer Brechungsexponenten mit dem des Glases 59 III wandte ich beide als geeignetste Immersionsöle bei meinen genauen Messungen an. Da aber das Toluol und in noch höherem Mafse das o-Xylol in kurzem den aus Kanadabalsam bestehenden Kitt der Immersionslinie aufgelöst und diese zerstört hätte, machte sich eine andere Anordnung als gewöhnlich erforderlich. Um das Toluol resp. o-Xylol von einer Berührung mit der Linse fernzuhalten, deckte ich über die Kapillare ein Deckgläschen und auf dieses brachte ich einen Tropfen Zedernöl, in das ich die Immersionslinse einsenkte. Um dem Deckgläschen einen festen Halt zu geben, legte ich auf beide Seiten darunter parallel zur Kapillare nahe an den Rand zwei weitere Kapillare von derselben Stärke wie jene. Mittels eines Glasstabes brachte ich die betreffende Flüssigkeit tropfenweise unter das Deckglas, und zwar derart, dafs der ganze Raum unter demselben davon erfüllt war. Während einer Messung machte sich allerdings oft wegen des schnellen Verdunstens der betreffenden Flüssigkeiten ein Nachfüllen nötig.

Ich stellte nun zuerst einen Vergleich über die Verschiedenheit der Werte an, die man erhält, wenn man Zedernöl, Toluol oder o-Xylol als Immersionsöl anwendet. Hinsichtlich der das Innere der Kapillare erfüllenden Flüssigkeit erschien es mir am vorteilhaftesten, im ersteren Falle Wasser, in den beiden anderen die betreffenden Flüssigkeiten in gefärbtem Zustande zu nehmen.

Ich färbte sie mit Alkannin, das sich dafür als sehr geeignet erwies und von mir in Form der im Handel befindlichen Paste angewandt wurde.

Ich nahm nun drei Kapillaren von ganz gleichem Durchmesser und liefs in diese die betr. Flüssigkeiten einsaugen. Den inneren Durchmesser der ersteren bestimmte ich, indem ich einen Tropfen Zedernöl auf dieselbe brachte und in der gewöhnlichen Weise eine Messung ausführte. Bei den anderen führte ich die Messung mit Toluol resp. o-Xylol als Immersionsöl aus. Es war in dem Falle äufserst schwierig, das Innere der Kapillaren unter dem Mikroskop einzustellen. Es erforderten diese Messungen aus dem Grunde viel Zeit und es war die Auffindung des Kapillarlumens nur dadurch möglich, dafs zuvor die Grenze von Luft und Flüssigkeit in der Kapillare bei schwacher Vergröfserung aufgesucht wurde. Aufserdem war grofse Vorsicht nötig, damit nicht das Deckgläschen durch ein wenig zu tiefes Senken der Linse zerdrückt wurde. Das Toluol resp. o-Xylol mufste ganz stark gefärbt sein, um ein deutliches Erkennen des Kapillarinnern zu ermöglichen. Der in den Resultaten zutage tretende Unterschied ist z. B.

I.

a) Zedernöl (Zeifs.)	D = 5,2	Teilstriche
b) Toluol	D = 5,5	»
c) o-Xylol	D = 5,5	»

II.

a) Zedernöl	D = 6,6	»
b) Toluol	D = 7,0	»
c) o-Xylol	D = 7,0	»

Wie man aus den Messungen ersehen kann, ist die Differenz eine ziemlich geringe. Es wäre nun eine äufserst zeitraubende Arbeit gewesen, alle Kapillaren für die vielen Versuche mit Toluol resp. o-Xylol als Immersionsöl zu messen. Aus diesem Grunde stellte ich die Durchmesser der Kapillaren durch die unvergleichlich einfachere Messung mit Zedernöl fest und be-

stimmte die genauen Werte durch Proportion oder Multiplikation mit dem sich aus folgenden Proportionen ergebenden Faktor a:

$$5{,}2 : 5{,}5 = 1 : a$$
$$a = 1{,}05$$
$$6{,}6 : 7{,}0 = 1 : a$$
$$a = 1{,}05.$$

Bei Kapillaren von geringer Weite handelte es sich nur um eine äufserst geringfügige Korrektur, z. B.:

Mit Zedernöl: D = **0,8** Teilstrich gemessen
0,8 . 1,05 = **0,84** Teilstrich.

Wenn man bedenkt, dafs es überhaupt nur möglich ist, 0,2 Teilstrich des Mafsstabes annähernd genau zu schätzen, so wäre es übertriebene Genauigkeit, diese Korrektur bei den geringen Weiten anzubringen. Erst wenn diese ca. 0,1 T. beträgt, mufs man sie in Rechnung bringen. Es ist dies aber erst bei Weiten von 2,0 T. an der Fall. Aufserdem mufste ich noch die Skala des von mir zu allen Messungen benutzten Okularmikrometers gegen einen genauen Mafsstab eichen. Es geschah dies durch Vergleichung mit einem in genau 100 Teile geteilten Millimeter von A. Zeifs, Jena. Auf diese Skala, welche sich auf einem Objektträger befand, brachte ich einen Tropfen Zedernöl und las mittels Ölimmersion ab, wie viel Teilstriche des $^1/_{100}$ mm-Mafsstabes den 50 Teilstrichen meines Okularmikrometers entsprachen:

50 T. → 8 T. des $^1/_{100}$ mm-Mafsstabes
1 T. → 0,16 T.

Ich mufste also sämtliche von mir mittels meines Okularmikrometers gemessene Werte mit 1,6 multiplizieren.

Eine andere physikalische Methode zur Bestimmung der inneren Durchmesser der Kapillaren, als die direkte Messung unter dem Mikroskop, war im vorliegenden Falle nicht anwendbar. Die Berechnung des Durchmessers durch Quecksilberwägung oder aus der kapillaren Steighöhe ist erstens wegen der hier vorliegenden Feinheit der Kapillaren und zweitens wegen der Umständlichkeit der Messungen nicht ausführbar.

I. Das Eindringen von Bakterien in feinste mit Nährlösung gefüllte Kapillaren.

Die Versuche über das Eindringen von Bakterien in feinste mit Nährlösung gefüllte Kapillaren führte ich mit denselben Bakterienarten aus, die ich zu den oben beschriebenen Versuchen über das Durchdringen von Kleinfiltern benutzt hatte. Die Weiten der angewandten Kapillaren schwankten zwischen 0,001 und 0,006 mm, während die inneren Durchmesser der von Pfeffer benutzten feinsten Kapillaren 0,025 mm betrugen. Ich führte die Untersuchungen derart aus, dafs ich erst die im Verhältnis zur Gröfse der betreffenden Bakterien ziemlich weiten Kapillaren nahm. Darauf ging ich allmählich zu immer engeren über, bis ich die Grenze des Eindringens erreicht hatte. Die von mir getroffene Anordnung der Versuche war der von Pfeffer beschriebenen sehr ähnlich. Da ich weniger die Bewegungen der Bakterien vor der Kapillaröffnung beobachten, als vielmehr mit möglichster Genauigkeit feststellen wollte, ob und in welchem Grade ein Eindringen derselben in die Kapillare stattfindet, reichten die von Pfeffer angewandten schwächeren Vergröfserungen nicht aus. Es war bei der geringen Weite der Kapillaren unbedingt erforderlich, mit der Ölimmersion die Vorgänge in deren Innern zu beobachten. Aus dem Grunde mufste ich eine andere Anordnung der Versuche treffen. Der geimpfte Wassertropfen durfte mit dem Immersionsöl nicht in Berührung kommen; zu dem Zwecke zog ich quer über den Objektträger einen schmalen Fettstreifen, der die Fläche desselben ungefähr im Verhältnis 1 : 2 teilte. Die 6—8 cm lange Kapillare liefs ich nun durch Eintauchen in die Nährlösung zum Teil vollsaugen, schmolz die eine Seite zu und entfernte die aufsen anhaftende Nährlösung. Alsdann legte ich die Kapillare derart auf den Objektträger, dafs sie den Fettstreifen mit dem offenen Ende ca. $^1/_2$—1 cm überragte. Mit einer kleinen Pipette brachte ich nun einen Tropfen der Bakterienaufschwemmung an die Öffnung der Kapillare und beobachtete auf der anderen Seite des Fettrandes die Vorgänge im Innern derselben. Bei den weiteren

Kapillaren war schon nach kurzer Zeit ein Einwandern der Bakterien zu beobachten. Durch geeignetes Abblenden des Gesichtsfeldes konnte ich jeden in die Kapillare eindringenden Bazillus deutlich erkennen. Die Kapillare wurde zunächst $^1/_4$ Stunde lang beobachtet; wenn ich bis dahin keine Einwanderung wahrgenommen hatte, brachte ich die Kapillaren für mehrere Stunden in eine feuchte Kammer. Nach Verlauf dieser Zeit nahm ich sie vom Objektträger, reinigte sie und schmolz das andere Ende ebenfalls zu. Dann durchsuchte ich mit der Ölimmersion die ganze Länge der Kapillare nach Bakterien. Meist waren nach dem Aufenthalt in der feuchten Kammer die Bakterien sämtlich, ihrem Verlangen nach Sauerstoff folgend, nach der am Ende der Kapillare befindlichen Luftblase gewandert.

Am gröfsten war die Möglichkeit des Einwanderns ganz im Anfang. Die Reizwirkung der in der Kapillare befindlichen Nährlösung auf die Bakterien ist anfangs am stärksten und nimmt ab in dem Mafse, wie sich die Diffusionszone in dem geimpften Wassertropfen ausbreitet. Waren also innerhalb einer Stunde keine Bakterien eingedrungen, so geschah dies später um so weniger.

Bei den feinsten Kapillaren war es unbedingt erforderlich, etliche Versuche mit derselben Weite anzustellen, da nur dadurch der Beweis für die Richtigkeit der erzielten Resultate geführt werden konnte. Denn wie ich schon oben erwähnte, ist das Eindringen der Bakterien in feine Kapillaren um so mehr dem Zufall unterworfen, je enger man letztere wählt. Die Möglichkeit des Anstofsens der Bakterien an den Rand der Kapillaröffnung und die Ablenkung von der Bewegungsrichtung in das Innere der Kapillare wird mit Verringerung ihrer Weite immer gröfser.

Die zu den Versuchen benutzten Bakterienarten züchtete ich auf schräg erstarrtem Agar oder Gelatine, und zwar Prodigiosus, die gelben Kokken und den Heubazillus auf Agar, Fluorescens und die Ingwer-Kokken auf Gelatine. Ich benutzte nur möglichst frische Reinkulturen, die nicht älter als 8 Tage waren. Für die Versuche wurde den Kulturen mittels steriler

Platinöse etwas entnommen und mit sterilem Leitungswasser aufgeschwemmt.

Die Gröfsenverhältnisse der von mir benutzten Bakterienarten bestimmte ich in der Weise, dafs ich von den Reinkulturen wiederholt Präparate anfertigte und nach diesen am Ende der Untersuchungen die durchschnittliche Gröfse angab. Es stellte sich allerdings heraus, dafs bei der langen Dauer der Untersuchungen in dieser Beziehung keine Änderung vor sich gegangen war. Zwischen den von mir angewandten Arten bestanden ungefähr die folgenden Gröfsenverhältnisse:

a) Bacillus prodigiosus:	Länge 0,8 — 1,3 μ
	Breite 0,3 — 0,4 »
b) Bacillus fluorescens:	Länge 1,3 — 1,8 »
	Breite 0,3 — 0,4 »
c) Heubazillus:	Länge 2,4 — 5,0 »
	Breite 0,4 — 0,8 »
d) Gelbe Kokken:	D 0,6 — 1,0 »
e) Ingwer-Kokken:	D 0,6 — 1,0 »

Im folgenden will ich kurz die Resultate zusammenstellen, die sich bei der vorliegenden Untersuchung ergaben.

a) Prodigiosus.

Bei der äufserst schnellen Eigenbewegung und der geringen Gröfse des Prodigiosus war es anzunehmen, dafs er in verhältnismäfsig enge Kapillaren eindringen würde, und ich unterliefs aus dem Grunde die Versuche mit weiteren Kapillaren.

Kap. 3,4 μ:	Nach ganz kurzer Zeit Einwanderung in dichten Schwärmen,
» 2,4 » :	Zahlreiche Einwanderung,
» 1,6 » :	Geringe Einwanderung, bei einigen Versuchen keine Einwanderung,
» 1,3 » :	Keine Einwanderung,
» 1,0 » :	Keine Einwanderung.

Die Grenze des Eindringens liegt also für Bacillus prodigiosus bei 1,6 μ.

Da bei der geringen Gröfse des Prodigiosus ein Versehen selbst bei genauester Ausführung der Untersuchungen bei der

Feinheit der Kapillaren von 1,3 μ und 1,0 μ nicht ausgeschlossen wäre, hielt ich einen genaueren Nachweis als das Auge für angebracht. Ich reinigte die beiderseits zugeschmolzenen Kapillaren in absolutem Alkohol, zerbrach sie mit zwei sterilen Pinzetten und brachte die Stücke in sterile Bouillon. Prodigiosus wurde wie früher durch Aufstrich auf Kartoffel nachgewiesen. Das folgende Resultat bewies die Richtigkeit meiner Beobachtungen:

a) Kap. 1,6 μ: Wachstum,
b) » 1,3 »: Kein Wachstum,
c) » 1,0 »: Kein Wachstum.

b) Fluorescens.

Kap. 3,4 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Sehr geringe Einwanderung.

Bei mehreren Versuchen mit dieser Weite fand keine Einwanderung statt.

Kap. 1,3 μ: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Die Grenze liegt ebenfalls bei 1,6 μ, trotzdem Fluoreszens gröfser ist als Prodigiosus. Der Beweis für die Richtigkeit der Beobachtungen wurde wie beim Prodigiosus geführt, mit dem Unterschied, dafs die zertrümmerte Kapillare in flüssige Gelatine geworfen wurde. Das Auftreten der grünlichen Fluoreszenz lieferte den genauesten Beweis:

a) Kap. 1,6 μ: Wachstum.
b) » 1,3 »: Kein Wachstum,
c) » 1,0 ». Kein Wachstum.

c) Heubazillus.

Nach der Gröfse des Heubazillus zu urteilen, könnte man glauben, dafs die Grenze des Eindringens für ihn bedeutend höher liegt. Die Versuche zeigten aber, dafs derselbe noch in Kapillaren eindrang, deren Durchmesser ungefähr die Hälfte seiner durchschnittlichen Länge betrugen.

Kap. 6,7 μ:	Sehr zahlreiche Einwanderung,
» 5,0 »:	Zahlreiche Einwanderung,
» 3,4 »:	Mäfsig starke Einwanderung,
» 2,6 »:	Geringe Einwanderung,
» 2,3 »:	Äufserst geringe Einwanderung,
» 1,9 »:	Einwanderung ganz selten,
» 1,6 »:	Keine Einwanderung,
» 1,3 »:	Keine Einwanderung.

Die Grenze läfst sich beim Heubazillus nicht so genau angeben wie beim Fluorescens und Prodigiosus. Bei Kap. 1,9 μ z. B. war unter mehreren Versuchen nur bei einem einzigen ein Eindringen des Heubazillus wahrzunehmen. Und man kann es auch als einen grofsen Zufall ansehen, wenn sich gerade in eine derartig enge Kapillare ein Bazillus verirrt. Während ich in den weiteren Kapillaren ein Eindringen des Heubazillus in langen Ketten beobachten konnte, waren es meist einzelne kleinere Individuen, die ihren Weg in die engeren Kapillaren fanden.

d) Gelbe Kokken.

Trotz des grofsen Unterschiedes in der Gestalt fand ich für die Kugelform besitzenden Bakterienarten fast die gleichen Verhältnisse. Man könnte glauben, dafs sie, durch ihre Form begünstigt, in noch engere Kapillaren eindringen könnten. Es zeigte sich aber, dafs dies nicht der Fall ist, sondern dafs ich für diese Bakterienarten dieselbe Grenze des Eindringens feststellen konnte wie für Prodigiosus und Fluorescens. Das Eindringen der letzteren in verhältnismäfsig enge Kapillaren ist vor allem ihrer lebhaften Eigenbewegung zuzuschreiben, die bei den Kokken nur äufserst gering oder meist gar nicht vorhanden ist. Die Resultate, die ich mit den beiden von mir benutzten Kokkenarten erhielt, stimmten bei ihrer fast gleichen Gröfse ziemlich überein. Doch machte sich in diesem Falle, ähnlich wie oben bei dem Durchwachsen von Kleinfiltern, der Unterschied bemerkbar, dafs die Ingwer-Kokken in Kapillaren von gleicher Weite zahlreicher und vor allem schneller eindrangen als die gelben Kokken.

Kap. 4,5 μ: Zahlreiche Einwanderung, in Reihen hintereinander angeordnet,
» 4,0 »: Zahlreiche Einwanderung,
» 3,4 »: Wenig zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Geringe Einwanderung,
» 1,9 »: Ganz geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Einwanderung sehr selten, in mehreren Fällen nicht beobachtet,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

e) Ingwer-Kokken.

Kap. 4,2 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 3,4 »: Weniger zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Geringere Einwanderung,
» 1,9 »: Geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Ergebnis.

Als wichtigstes Ergebnis dieser Untersuchungen hat sich die Tatsache herausgestellt, dafs ein Eindringen von Bakterien in die feinsten Kapillaren nicht stattfindet. Die Grenze des Eindringens liegt sogar etwas höher als man erwarten könnte. Denn die Bakterien dringen, wie durch die zahlreichen Versuche bewiesen worden ist, schon in Kapillaren von einem Durchmesser nicht mehr ein, der gröfser ist als ihre Breite, in welchen ihr Körper also noch bequem Raum hätte.

II. Das Einsaugen von Bakterien in leere Kapillaren.

Bekanntlich wird eine Flüssigkeit um so stärker in eine Kapillare eingesaugt, je kleiner ihr Durchmesser ist. Man könnte sich nun die Frage vorlegen: Welche Umstände treten ein, wenn man eine leere Kapillare zu einer Aufschwemmung von Bakterien bringt? Werden die Bakterien selbst in ganz feine Kapillaren eingesaugt oder widerstreben sie dem Eintritt in das Kapillarinnere? Die genaue

Beantwortung dieser Frage auf experimentellem Wege schien mir von grofsem Interesse, da man sich über diesen Vorgang gänzlich im Unklaren befindet und nur Vermutungen darüber aufstellen kann.

Ich führte die Versuche derart aus, dafs ich fast dieselbe Anordnung wie bei den soeben beschriebenen Untersuchungen über das Eindringen der Bakterien in mit Nährlösung gefüllte Kapillaren traf. Unter dem Mikroskop stellte ich das Innere der leeren, beiderseits offenen Kapillare ein, brachte einen Tropfen der Bakterienaufschwemmung an ihre Öffnung und beobachtete, ob in der eingesaugten Flüssigkeit Bakterien vorhanden waren. Um an der entgegengesetzten Seite ein Eindringen von Immersionsöl in die offene Kapillare zu verhindern, mufste dieses Ende etwas über den Objektträger hinausragen. Nach beendigter Beobachtung wurde die Kapillare beiderseits zugeschmolzen und nochmals in ihrer ganzen Länge genau auf das Vorhandensein von Bakterien geprüft. Im vorliegenden Falle war besonderes Gewicht darauf zu legen, dafs die Flüssigkeit eine möglichst grofse Anzahl von Bakterien enthielt, da dadurch die Genauigkeit der Beobachtungen bedeutend erhöht wurde. Denn je mehr Bakterien in der Flüssigkeit enthalten waren, desto gröfser wurde die Möglichkeit des Eindringens in die Kapillaren. Ich nahm deshalb bedeutend mehr Bakterienmaterial als bei den vorhergehenden Versuchen und benutzte Aufschwemmungen, die eine starke milchige Trübung zeigten. Wie ich an späterer Stelle bei anderen Versuchen fand, enthielt 1 ccm dieser Aufschwemmungen viele Millionen Keime. Mit den feinsten Kapillaren führte ich eine gröfsere Anzahl von Versuchen aus, um die Grenze des Eindringens mit Sicherheit feststellen zu können. Aufser den von mir vorher benutzten Bakterienarten stellte ich diese Versuche noch mit zwei Hefearten an, die ich auf Bierwürzegelatine züchtete. Die Hefe 740 hatte eine kurze, runde, die Hefe Saaz eine lange, schmale Form. Beide Hefen stammten aus dem Hefereinzuchtlaboratorium von Lindner, Berlin. Die Gröfsenverhältnisse dieser Hefen waren ungefähr folgende:

	Hefe 740	Hefe-Saaz
Länge	4,0 — 8,0 μ	4,0 — 9,6 μ
Breite	3,2 — 4,0 »	2,4 — 3,2 »

Die speziellen, mit den verschiedenen Bakterienarten gemachten Beobachtungen will ich im folgenden kurz anführen:

a) Prodigiosus.

Kap. 3,4 μ: Äufserst zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Weniger zahlreiche Einwanderung,
» 1,6 »: Ganz geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Wie bei den vorigen Versuchen mit Prodigiosus hielt ich es auch hier für nötig, bei seiner geringen Gröfse die Sicherheit des Ergebnisses durch den kulturellen Nachweis zu erhärten. Ich schmolz nach den Versuchen die Kapillaren beiderseits zu, reinigte sie in absolutem Alkohol, zertrümmerte sie mit sterilen Pinzetten und warf die Stücke in sterile Bouillon. Es bestätigten sich die von mir gemachten Beobachtungen:

Kap. 1,6 μ: Wachstum,
» 1,3 »: Kein Wachstum,
» 1,0 »: Kein Wachstum.

b) Fluorescens.

Kap. 3,4 μ: Äufserst zahlreiche Einwanderung,
» 2,3 »: Weniger zahlreiche Einwanderung,
» 1,6 »: Geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Der Nachweis nach der oben angegebenen Art lieferte folgendes Resultat:

Kap. 1,6 μ: Wachstum,
» 1,3 »: Kein Wachstum,
» 1,0 »: Kein Wachstum.

c) Heubazillus.

Kap. 5,6 μ: Äufserst zahlreiche Einwanderung,
» 4,2 »: Geringe Einwanderung,
» 3,4 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 2,3 »: Nur selten Einwanderung,
» 1,6 »: Keine Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung.

In mehreren der mit Kapillaren von 2,3 μ angestellten Versuche fand kein Eindringen von Bakterien statt. Von Interesse ist die von mir in den weiteren Kapillaren manchmal beobachtete Erscheinung, dafs ein Bazillus in der Kapillare umkehrte und wieder nach der Öffnung zurückwanderte.

d) Gelbe Kokken.

Kap. 2,7 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 2,3 »: Geringe Einwanderung,
» 1,9 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Einwanderung selten,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

e) Ingwer-Kokken.

Kap. 3,4 μ: Sehr zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Zahlreiche Einwanderung,
» 1,6 »: Geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

f) Hefe 740.

Kap. 8,3 μ: Geringe Einwanderung,
» 6,7 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 5,0 »: Äufserst geringe Einwanderung,
» 4,2 »: Keine Einwanderung,
» 3,4 »: Keine Einwanderung.

g) Hefe-Saaz.

Kap. 6,7 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 5,0 »: Geringe Einwanderung,
» 4,2 »: Ganz geringe Einwanderung,
» 3,4 »: Keine Einwanderung,
» 2,4 »: Keine Einwanderung.

Bei den mit den Hefen angestellten Versuchen kam oft eine Verstopfung der Kapillaren vor.

Ergebnis.

Vergleicht man die Ergebnisse dieser Versuchsreihe mit denen der vorigen, so bemerkt man eine auffällige Übereinstimmung. Ich stellte für die Einschwemmung der Bakterien in leere Kapillaren dieselben Grenzen fest, die ich vorher für das freiwillige Eindringen der Bakterien in Kapillaren ermittelt hatte, die mit Nährlösung gefüllt waren. Aus den erhaltenen Resultaten kann man den Schlufs ziehen, dafs die Bakterien dem Einschwemmen in die feinsten Kapillaren einen gewissen Widerstand entgegensetzen. Sie folgen nicht einfach der eindringenden Flüssigkeit, sondern man kann sich die Vorstellung machen, dafs sie sich an dem Rand der Kapillaröffnung festklammern. Das Ergebnis dieser Versuche läfst sich dahin zusammenfassen, dafs ein Einsaugen der Bakterien in leere Kapillaren, deren Durchmesser unterhalb der von mir bestimmten Grenze von 1,6 μ liegen, nicht stattfindet.

III. Über die Zeiten, in denen verschieden starke Kapillaren von Bakterien durchdrungen werden.

Solange es sich darum handelt, das durch die Reizwirkung eines Nährstoffes hervorgerufene Eindringen von Bakterien in feine Kapillaren zu beobachten, genügt die von mir oben beschriebene Methode vollkommen. Es zeigte sich, dafs die Möglichkeit des Eindringens zuerst am gröfsten ist, mit der durch die Diffusion des Nährstoffes hervorgerufenen Ausdehnung der Reizzone aber schnell abnimmt. Eine lange Beobachtungsdauer kam also bei diesen Versuchen nicht in Frage.

Sollen aber nun die Verhältnisse erforscht werden, die eintreten, wenn die Bakterien sich bereits in einer Nährlösung befinden, und zu dieser eine mit der gleichen Nährlösung gefüllte Kapillare gebracht wird, so kann man sich der obigen Versuchsanordnung nicht mehr bedienen. Es läfst sich voraussagen, dafs die Zeit, in welcher ein Durchwandern der Kapillaren durch die

Bakterien erfolgt, eine viel längere sein wird als in dem Falle, wo ein auf die Bakterien ausgeübter Reiz das Eindringen in die Kapillaren hervorrief. Die Kapillaren, in welche die Bakterien gar nicht oder nur selten durch den von dem Nährstoff ausgeübten Reiz hineingelockt wurden, werden hier nicht in Betracht kommen, sondern nur jene, in welchen eine zahlreiche Einwanderung beobachtet wurde.

Da die Dauer einiger Untersuchungen ca. 30 Tage betrug, machte sich eine Anordnung der Versuche erforderlich, die diesem Umstande genügend Rechnung trug. Die Beobachtung mit dem Mikroskop war von vornherein ausgeschlossen, es mufste mit dem unbewaffneten Auge möglich sein, den Gang der Versuche zu verfolgen. Um dieser Forderung in vollem Mafse gerecht zu werden, konstruierte ich den in Fig. 2 dargestellten Apparat.

Die beiden mit den Ansatzröhrchen *a* und *b* versehenen Reagensgläser *A* und *B* liefs ich mir, um die oben erwähnten schädigenden Einflüsse gewöhnlicher Gläser auszuschliefsen, aus dem Schott-schen Borosilikatglas 59 III herstellen. Besonders die lange, bis zu 1 Monat betragende Dauer einiger Versuche veranlafste mich zu dieser Vorsicht. Um diese beiden Gläser gut befestigen zu können, nahm ich zwei schmale Bandeisen, zwischen welche ich die Gläser durch eine in der Mitte befindliche Schraube festklemmen konnte. Um ein Zerdrücken der Gläser zu verhüten, umgab ich sie unten mit Streifen dicken Tuches. Es mufsten nun die Gefäfse *A* und *B* durch die feinen Kapillaren von verschiedenen Weiten verbunden werden. Die Befestigung der Kapillaren in den Ansatzröhrchen *a* und *b* bereitete mir zuerst grofse Schwierigkeiten. Kleine Gummistopfen erwiesen sich aus dem Grunde als untauglich, weil beim Einsetzen derselben die Kapillaren zerbrachen. Aufserdem war es wegen der

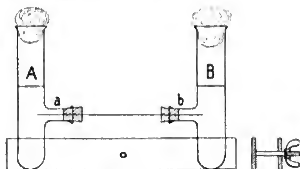


Fig. 2.

Elastizität des Gummis schwierig, die Kapillaren durch die Bohrung der Gummistopfen hindurchzustecken ohne sie zu zerbrechen. Am besten bewährten sich kleine, etwas konisch zulaufende Korke von möglichst fehlerfreier Beschaffenheit. Diesen brachte ich mittels einer feinen Nadel eine Bohrung von solcher Weite bei, dafs sich die Kapillaren ohne Druck bequem hindurchstecken liefsen. Die Korke wurden vor Gebrauch, um etwa in ihnen enthaltene Sporen abzutöten, ca. 1 Stunde auf 120° erhitzt. Die Versuche wurden mit diesem Apparat folgendermafsen ausgeführt.

Die beiden Gläser *A* und *B* wurden mit passenden Korken und Wattebausch versehen und locker im Stativ befestigt. Die für den betreffenden Versuch bestimmte Kapillare, die beiderseits zugeschmolzen und genau gemessen war, wurde sorgfältig gereinigt und zuerst durch den einen Kork gesteckt. Nun erst wurde das zugeschmolzene Ende abgebrochen, der Kork in dem Röhrchen *a* befestigt und dasselbe auf der anderen Seite wiederholt. Das Befestigen der Kapillare in dem zweiten Kork und das Einstecken desselben in das Röhrchen *b* erforderte sehr grofse Vorsicht, da bei einer etwas zu starken Neigung eines der beiden Gläser ein Zerbrechen der Kapillare erfolgte. Dadurch, dafs die zugeschmolzenen Enden der Kapillare erst abgebrochen wurden, nachdem diese durch die Korke gesteckt war, wurde jegliche Verunreinigung oder Verstopfung des Kapillarinnern ausgeschlossen. Es war nun wegen der leichten Zerbrechlichkeit der Kapillaren unmöglich, die Korke so fest in die Ansatzröhrchen hineinzupressen, dafs ein vollkommen dichter Verschlufs erreicht wurde. Als bestes Mittel zum Abdichten erwies sich Kollodium. Vor dem Überziehen der Korke mit Kollodium wurde der Apparat ca. 1 Stunde bei 120° erhitzt. Die Nachteile, welche das Sterilisieren des mit Nährlösung gefüllten Apparates im strömenden Dampf mit sich brachte, veranlafsten mich, den Apparat in leerem Zustande durch trockene Hitze zu sterilisieren. Durch die Einwirkung des Dampfes wurde vor allem die Flüssigkeitssäule in der Kapillare zertrennt, so dafs von vornherein ein Gelingen der Versuche ausgeschlossen war.

Allerdings mufste nun das Füllen der Apparate mit Nährlösung in einer Weise vorgenommen werden, die jegliche Verunreinigung durch Luftkeime ausschlofs. Zu dem Zwecke führte ich diese Operation in einer sterilen Kammer aus, einem Glaskasten, dessen vordere Wand beweglich war, um die Arbeiten im Innern bequem verrichten zu können. Die Apparate wurden etwas schräg gestellt, die eine Seite mit Nährlösung gefüllt, und so einige Stunden stehen gelassen, damit die Flüssigkeit bestimmt bis an das Ende der Kapillare laufen sollte. Dann erst wurde die andere Seite mit Nährlösung beschickt. Eine Verunreinigung durch das Hineinfallen fremder Keime während des Füllens trat bei der grofsen Anzahl der von mir angestellten Versuche nicht ein einziges Mal ein. Hingegen mifsglückte ein beträchtlicher Teil deshalb, weil die Kapillaren nicht vollkommen mit Flüssigkeit angefüllt waren. Um dies möglichst zu vermeiden, stellte ich in dem noch nicht gefüllten Röhrchen des Apparates durch Saugen mit der Wasserluftpumpe einen luftverdünnten Raum her. Doch auch dies war nicht immer von Erfolg begleitet und das Gelingen der Versuche war deshalb sehr vom Zufall abhängig. In der sterilen Kammer wurde die eine Seite des Apparates mit einer Öse Bakterienmaterial geimpft, gut umgeschüttelt und in den Brutschrank gebracht.

Die angesetzten Versuche wurden täglich einer genauen Musterung unterworfen. War in dem nicht geimpften Röhrchen Wachstum eingetreten, so wurde die betreffende Bakterienart, die zu dem Versuche benutzt worden war, in der oben beschriebenen Weise nachgewiesen. Der Apparat wurde auseinandergenommen und die Kapillare zur Kontrolle nochmals genau gemessen.

Ich benutzte wiederum dieselben Bakterienarten und Hefen, wie bei den vorhergehenden Versuchen über das Einsaugen in leere Kapillaren. Für die verschiedenen Arten suchte ich zuerst die Durchmesser der Kapillaren festzustellen, für welche die Dauer des Durchdringens nur ca. 1 Tag betrug. Ich stellte dann Versuche mit immer engeren Kapillaren an, bis ich schliefslich die Weite fand, bei der selbst nach 30 Tagen kein Wachstum in

dem nicht geimpften Röhrchen eintrat. Ein Haupterfordernis für die Erzielung genauer Resultate bestand darin, dafs die Versuche mit ein und derselben Bakterienart unter ganz gleichen Bedingungen ausgeführt wurden. Vor allem mufste zu einer Versuchsreihe stets nur dieselbe Nährlösung genommen werden, da sonst eine wesentliche Veränderung der Resultate eingetreten wäre, die eine Anstellung von Vergleichen ausgeschlossen hätte.

Um genauere Resultate zu erhalten, impfte ich zu Beginn der Versuche auf der einen Seite des Apparates soviel Bakterienmaterial ein, dafs schon nach wenigen Stunden kräftigstes Wachstum eintrat. Bei den Versuchen mit den Hefen rechnete ich den Beginn von dem Zeitpunkte an, wo lebhafte Gasentwicklung eingetreten war. Die mit Hefen angesetzten Apparate blieben bei Zimmertemperatur (20° C) stehen.

Die so erhaltenen Resultate sind für die angewandten Arten in hohem Mafse charakteristisch. Ich will sie in der folgenden Übersicht zusammenstellen.

a) Prodigiosus.

Kap.	5,4 μ	⟶	1 Tag,
»	4,5 »	⟶	2 Tage,
»	4,2 »	⟶	4 »
»	3,4 »	⟶	12 »
»	2,4 »	⟶	26 »
»	1,9 »	⟶	mehr als 30 Tage.

b) Fluorescens.

Kap.	6,7 μ	⟶	1 Tag,
»	5,0 »	⟶	2 Tage,
»	3,8 »	⟶	10 »
»	2,4 »	⟶	mehr als 30 Tage.

c) Heubazillus.

Kap.	13,1 μ	⟶	1 Tag,
»	9,7 »	⟶	3 Tage,
»	8,3 »	⟶	12 »
»	7,5 »	⟶	23 »
»	5,0 »	⟶	34 »

d) Ingwer-Kokken.

Kap.	13,1 μ	⟶	1 Tag,
»	10,0 »	⟶	2 Tage,
»	8,3 »	⟶	6 »
»	5,0 »	⟶	8 »
»	3,4 »	⟶	mehr als 30 Tage.

e) Gelbe Kokken.

Kap.	16,8 μ	⟶	1 Tag,
»	12,5 »	⟶	3 Tage,
»	10,0 »	⟶	6 »
»	8,0 »	⟶	7 »
»	6,7 »	⟶	8 »
»	5,0 »	⟶	11 »
»	3,1 »	⟶	mehr als 30 Tage.

f) Hefe 740.

Kap.	32,0 μ	⟶	3 Tage,
»	23,5 »	⟶	4 »
»	15,7 »	⟶	5 »
»	13,4 »	⟶	7 »
»	11,3 »	⟶	20 »
»	7,5 »	⟶	30 »

g) Hefe-Saaz.

Kap.	25,3 μ	→	4	Tage,
»	16,0 »	→	5	»
»	13,4 »	→	12	»
»	9,3 »	→	20	»
»	7,5 »	→	28	»

Die vorstehenden Ergebnisse zeigen deutlich, wie mit Verringerung des Durchmessers der Kapillaren eine rasche Zunahme der Dauer des Durchwanderns stattfindet. Die Länge der Kapillaren betrug im Durchschnitt 8 cm. Der Weg, den die Bakterien zurückzulegen hatten, war also im Vergleich zu ihrer Gröfse von ganz beträchtlicher Länge. Die Ergebnisse der Versuche lassen ferner den grofsen Einflufs der Bewegungsfähigkeit und Gröfse der angewandten Bakterienarten deutlich erkennen. Der kleine und mit lebhafter Eigenbewegung versehene Bacillus prodigiosus durchwandert die Kapillaren im Vergleich zu den anderen Arten in der kürzesten Zeit. Der gröfste von allen, der Heubazillus, wächst durch dieselbe Kapillare in 34 Tagen, durch welche Prodigiosus in 2 Tagen gelangt.

Die von manchen Forschern gemachte Angabe, dafs verschiedene Kokkenarten nur zeitweise Eigenbewegung besitzen und dies in hohem Grade von der Beschaffenheit des Nährbodens abhängig ist, fand ich bei meinen Versuchen mit den Ingwerkokken bestätigt. Aufser den oben von mir für diese Bakterienart angegebenen Zeiten erhielt ich gegen Ende meiner Untersuchungen einige Resultate, die mit den ersteren nicht im geringsten übereinstimmten. Es durchwanderten z. B. die Ingwer-Kokken eine Kapillare von 4,2 μ in 4 Tagen und von 6,7 μ in 1 Tage, also ebenso schnell wie Prodigiosus und Fluoreszenz. Während die Ingwer-Kokken bei der ersten Versuchsreihe fast das gleiche Verhalten wie die gelben Kokken gezeigt hatten, traten bei Anwendung einer anderen, ihnen offenbar mehr zusagenden Nährlösung ganz andere Erscheinungen zutage. Durch diese Beobachtung findet auch der bei meinen Versuchen über das Durchwachsen von Kleinfiltern zwischen den beiden Kokkenarten festgestellte Unterschied vollkommene Aufklärung.

IV. Über den Einflufs höherer Drucke auf das Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren.

Die bis jetzt von mir beschriebenen Versuche sind alle unter gewöhnlichen Druckverhältnissen ausgeführt worden. Da es aber von grofsem Interesse ist, den Einflufs höherer Drucke auf das Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren genau festzustellen, stellte ich auch nach dieser Richtung hin Versuche an. Es handelte sich also um die Beantwortung der für die Theorie der Filtration überaus wichtigen Frage, ob durch Anwendung höherer Drucke Bakterien auch durch die engsten Kapillaren hindurchgeprefst werden.

Ich hatte anfangs die Absicht, die Versuche nicht wie bisher mit einer einzigen Kapillare anzustellen, sondern durch Vereinigung einer grofsen Anzahl feinster Kapillaren einen Apparat zu konstrnieren, den man ein absolut keimfrei arbeitendes Filter nennen könnte. Von den beiden Apparaten, die ich zu diesem Zwecke herstellte, war der eine aus 50, der andere aus ca. 100 Kapillaren zusammengesetzt. Ich wählte Kapillaren von einer Weite, die nach den bei den oben beschriebenen Versuchen gemachten Erfahrungen auf keinen Fall den Bakterien den Durchgang gestatteten. Die dazu benutzten Kapillaren wurden vorher sorgfältig gemessen, mit absolutem Alkohol gereinigt und durch eine flache Korkscheibe gesteckt, die im unteren Teile eines ca 12 cm langen und 8 cm weiten Glaszylinders befestigt war. Mit Kollodium wurden die Kapillaren eingekittet und aufserdem auf beiden Seiten der Korkscheibe eine ca. 2 cm starke Paraffinschicht aufgetragen, die ein Durchwachsen der Bakterien durch etwaige, von dem Kollodium noch nicht verstopfte Poren des Korkes gänzlich ausschliefsen sollte. Nach dem Erstarren des Paraffins wurden die Enden der Kapillaren vorsichtig mit einer sterilen Zange abgebrochen, der Apparat mit einem ca. 2,5 m langen Steigrohr versehen und mit der Bakterienaufschwemmung gefüllt. Es zeigte sich, dafs bei dem Drucke dieser Wassersäule mit dem blofsen Auge nicht die geringste Tröpfchenbildung

an den Kapillaren zu beobachten war. Wohl aber konnte ich unter dem Mikroskop an einigen abgebrochenen Kapillaren feststellen, dafs sie bis an das Ende mit Flüssigkeit gefüllt waren. Um etwa in die Kapillaren eingedrungene Bakterien nachzuweisen, liefs ich die Kapillaren in eine kleine, vor Luftinfektion geschützte Schale mit sterilem Leitungswasser eintauchen. Nach ca. 24 stündiger Dauer des Versuches gofs ich von dem in dem Schälchen befindlichen Wasser einige Platten, auf welchen ich selbst nach 8 Tagen keine Kolonien des betreffenden Bazillus bemerkte.

Leider erlaubte mir die Konstruktion des Apparates nicht, den Einflufs höherer Drucke durch Versuche festzustellen. Aber nicht nur dieser Umstand, sondern vor allem die mannigfachen Nachteile dieser Versuchsanordnung im allgemeinen veranlafsten mich, den beschrittenen Weg zu verlassen und die Versuche wie früher mit nur einer Kapillare anzustellen. So günstig es auch wäre, die Untersuchungen gleichzeitig mit mehreren Kapillaren von demselben Durchmesser auszuführen, verbietet sich dies besonders aus dem Grunde, weil ein solcher Apparat nicht übersichtlich ist und einwandfreie Resultate mit ihm nicht erzielt werden können. Von vornherein ist die senkrechte Stellung der Kapillaren auszuschliefsen, weil bei der geringsten Undichtheit, die namentlich bei Anwendung höherer Drucke trotz gröfster Sorgfalt beim Einkitten der Kapillaren nicht zu vermeiden ist, die Bakterien mit einem aufsen an der Kapillare herunterfliefsenden Tropfen in das Filtrat gelangen können. Es geht also aus diesen Überlegungen zur Genüge hervor, dafs man einwandfreie Resultate bei diesen Versuchen nur dann erzielen kann, wenn man nur eine Kapillare benutzt und diese in horizontaler Lage anbringt.

Die Anwendung eines geringeren Druckes, als er uns in dem Leitungsnetz der städtischen Wasserleitung zur Verfügung steht, hielt ich für überflüssig, und ich ging dazu über, den Einflufs dieses ca. 3 Atm. betragenden Druckes durch eine gröfsere Anzahl von Versuchen festzustellen.

a) Wasserleitungsdruck.

Um allen soeben erwähnten Anforderungen gerecht zu werden, konstruierte ich den in Fig. 3 dargestellten Apparat. Aus einem dickwandigen Glasrohr von ca. 1 cm äufseren Durchmesser bog ich mir das bajonnetförmige Rohr *A*, welches bei *B* mit einer Einschnürung versehen ist, um ein Abgleiten des Gummischlauches zu verhindern, durch den ein nach dem Wasserleitungshahn führendes, dünnes Bleirohr mit dem Apparat verbunden wurde. Der Gummischlauch wurde durch Anziehen einiger um ihn gelegter Drahtschlingen sicher befestigt. Bei *C* zog ich das Rohr zu einer dünnen, langen Spitze aus, in deren Ende die Kapillaren eingekittet wurden. Das Einkitten geschah

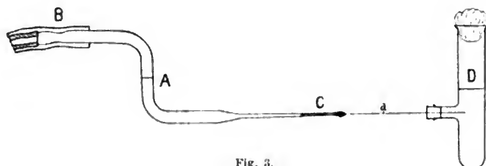


Fig. 3.

mit Schellack und wurde folgendermafsen ausgeführt. Die für den betreffenden Versuch bestimmte, genau gemessene und gut gereinigte Kapillare wurde nach Abbrechen des einen zugeschmolzenen Endes ca. 2—3 cm tief in das dünne Rohr *C* gesteckt. Darauf brachte ich in einem kleinen Röhrchen fein gepulverten braunen Schellack zum Schmelzen und gofs einen Tropfen an die Öffnung des dünnen Rohrs. Durch vorsichtiges Nähern an die Sparflamme eines Bunsenbrenners bewirkte ich, dafs der Schellack einige Millimeter weit in das Rohr *C* eindrang. Nach diesem brachte ich noch einen Tropfen Schellack daran, den ich durch vorsichtiges Erwärmen und beständiges Drehen gut verteilte, so dafs ich dadurch einen ganz sicheren Abschlufs erreichte. Ein Verstopfen der in dem Rohre *C* befindlichen Öffnung der Kapillare trat bei Anwendung der nötigen Vorsicht nicht ein einziges Mal ein. Wohl aber war das Erwärmen in der Nähe

der Flamme insofern sehr gefährlich, als bei einem zu starken Nähern die dünne Kapillare erweichte und sofort herunterknickte. Analog den oben beschriebenen Versuchen begann ich auch hier mit weiteren Kapillaren und ging allmählig zu immer engeren über, bis ich schliefslich die Grenze des Eindringens fand, die ich durch mehrere Versuche genau feststellte.

War die Kapillare in das Rohr *C* eingekittet, so füllte ich dasselbe zum Teil mit einer starken Aufschwemmung der betreffenden Bakterienart in sterilisiertem Leitungswasser. Durch Schütteln des Rohres entfernte ich die Luftblasen aus seiner Spitze, spannte es in ein Stativ ein und stellte die Verbindung mit der Wasserleitung her. Vorher brachte ich noch in das Ende *B* des Rohres *A* einen kleinen Wattebausch, um ein Hineingelangen von Gummiteilchen etc. zu verhindern. An einem andern Stativ befestigte ich ein steriles, mit durchbohrtem Kork versehenes Borosilikatröhrchen *D* von derselben Form, wie ich sie bei den Versuchen mit gewöhnlichem Druck benutzte. Dieses klemmte ich derart ein, dafs die Kapillare und die Bohrung des Korkes in genau derselben Linie lagen. Nun reinigte ich die Kapillare noch einmal mit absolutem Alkohol und entfernte dann den Kork aus dem Ansatzröhrchen, ohne jedoch den nach innen gerichteten Teil des letzteren mit den Fingern zu berühren. Mit einer sterilen Nadel erweiterte ich die Bohrung des Korkes ein wenig, schob ihn über die Kapillare und brach nun deren zugeschmolzenes Ende ab. Das Befestigen des Korkes in dem Ansatzröhrchen mufste mit gröfster Vorsicht vorgenommen werden, da bei einer etwas zu starken Biegung die Kapillare sofort zerbrach. In dem Falle blieb nichts anderes übrig, als eine neue Kapillare einzukitten, nachdem das Rohr *C* gut getrocknet war. Gewöhnlich hielt ich jedoch, um mehrere Versuche hintereinander ausführen zu können, etliche Rohre vorrätig.

Es bedurfte der Ausführung einer grofsen Anzahl von Versuchen, um die Zusammenstellung des Apparates mit der nötigen Sicherheit bewerkstelligen zu können. War der Apparat fertig und der Kork mit Kollodium gut abgedichtet, so wurde der Wasserleitungshahn geöffnet. Das Einfüllen der Nährlösung in *D*

geschah erst nach einigen Minuten, und zwar deshalb, um erst die in der Kapillare befindliche Luft zu verdrängen. Die Dauer eines Versuches betrug ca. 15 Minuten. Trotz der grofsen Genauigkeit, mit der das Einkitten der Kapillaren vorgenommen wurde, war doch in manchen, bei Anwendung dieses geringen Druckes allerdings seltenen Fällen eine Tropfenbildung an der Kittstelle zu bemerken. Es zeigte dies, von wie grofsem Vorteil die von mir benutzte Stellung der Kapillaren gegenüber der senkrechten ist. Bei der letzteren hätte der Tropfen seinen Weg in die Nährlösung nehmen können, während dies jetzt gänzlich ausgeschlossen war. Die Tropfen fielen senkrecht hinunter, ohne sich auch nur ein Stück an der Kapillare entlang fortzubewegen.

Nach Beendigung eines Versuches wurde die Kapillare bei *a* zerbrochen, zugeschmolzen und das Röhrchen *D* in den Brutschrank gestellt. Bei den mit dem Heubazillus angesetzten Versuchen blieben die Röhrchen mindestens 10 Tage stehen. Es wurde übrigens wegen des langsamen Wachstums desselben als Nährlösung nicht Bouillon, sondern Gelatine benutzt. Bei den anderen Arten trat gewöhnlich schon nach 1—2 Tagen Wachstum ein. Die Hefen zeigten bei Zimmertemperatur auch erst nach ca. 10 Tagen deutliches Wachstum.

Den Nachweis der betreffenden Bakterienarten führte ich in derselben Weise wie oben. Nach Beendigung des Versuches wurden die Kapillaren aus dem Korke durch vorsichtiges Eindrücken der Kollodiumhaut entfernt, gut gereinigt und das offene Ende zugeschmolzen. Unter dem Mikroskop wurde nun die Kapillare nochmals genau gemessen und vor allem festgestellt, ob die Flüssigkeit die ganze Kapillare erfüllte. War dies nicht der Fall, so wurde der Versuch als ungültig betrachtet.

Keimzahl der Aufschwemmungen.

Die für die Versuche benutzten Bakterienaufschwemmungen mufsten eine sehr grofse Anzahl von Keimen enthalten. Ich nahm möglichst frische, ca. 8—14 Tage alte Kulturen, deren Belag ich mit sterilisiertem Leitungswasser aufschwemmte. Um ein Verstopfen der Kapillaren durch gröbere, zusammen-

hängende Bakterienmassen zu verhüten, filtrierte ich die Aufschwemmungen durch dünnes Fliefspapier. Während dies bei den übrigen Bakterienarten eine wesentliche Veränderung der Keimzahl nicht herbeiführte, enthielt die Aufschwemmung des Heubazillus nach dem Filtrieren nur ungefähr den zehnten Teil der erst darin befindlichen Keime. Die Ursache hierfür ist in der Kettenbildung des Heubazillus und der damit zusammenhängenden Bildung von festeren Massen zu suchen. Ich mufste aus diesem Grunde ein Filtrieren der Aufschwemmungen des Heubazillus unterlassen.

Die Keimzahl der Aufschwemmungen bestimmte ich jedesmal durch das Plattenverfahren. Da diese ungeheuer viel Keime enthielten, entnahm ich denselben nur $^1/_{10}$ ccm, verdünnte diese Menge mit 100 ccm Wasser und gofs mit $^1/_{10}$ ccm dieser Verdünnung eine Platte. Die so festgestellten Keimzahlen bezifferten sich pro Kubikzentimeter bis auf mehrere hundert Millionen. Für die Genauigkeit der erhaltenen Resultate war dies meines Erachtens von gröfster Bedeutung.

Die mit den Hefekulturen hergestellten Aufschwemmungen filtrierte ich nicht, sondern benutzte sie nach Absetzenlassen der gröberen Bestandteile ohne weiteres zu den Versuchen. Allerdings hatte dies oft ein Verstopfen der Kapillaren zur Folge und erforderte die Ausführung einer gröfseren Anzahl von Versuchen.

Ergebnis.

Es wäre nun zu erwarten gewesen, dafs unter der Einwirkung des Wasserleitungsdruckes die Bakterien durch bedeutend feinere Kapillaren hindurchgeprefst würden, als sich bei dem Einsaugen in leere Kapillaren herausgestellt hatte. Merkwürdigerweise ist dies aber keineswegs der Fall. Es gelang mir, durch eine grofse Anzahl von Versuchen den Beweis zu liefern, dafs für die vorliegenden Untersuchungen mit Wasserleitungsdruck die Grenzen des Eindringens für die einzelnen Arten genau dieselben sind wie bei dem Einsaugen in leere Kapillaren. Es ergab sich die überraschende Tatsache, dafs dieser Druck von ca. 3 Atm. es nicht

vermag, die Bakterien durch feinere Kapillaren hindurchzupressen. Die Ergebnisse der Versuche will ich in der folgenden Tabelle wiedergeben und zum Vergleich die Resultate der anderen Versuchsreihe gegenüberstellen.

Wasserleitungsdruck.	**Einsaugen in leere Kapillaren.**
a) Prodigiosus.	a) Prodigiosus.
Kap. 1,9 μ: pos.	Kap. 1,9 μ: pos.
» 1,6 »: »	» 1,6 »: »
» 1,3 »: neg.	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: »	» 1,0 »: »
b) Fluorescens.	b) Fluorescens.
Kap. 1,9 μ: pos.	Kap. 1,9 μ: pos.
» 1,6 »: »	» 1,6 »: »
» 1,3 »: neg.	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: »	» 1,0 »: »
c) Heubazillus.	c) Heubazillus.
Kap. 4,6 μ: pos.	Kap. 4,2 μ: pos.
» 3,0 »: »	» 3,4 »: »
» 2,4 »: »	» 2,4 »: »
» 1,9 »: neg.	» 1,9 »: neg.
» 1,6 »: »	» 1,6 »: »
» 1,0 »: »	» 1,3 »: »
d) Ingwer-Kokken.	d) Ingwer-Kokken.
Kap. 2,7 μ: pos.	Kap. 2,4 μ: pos.
» 1,9 »: »	» 1,9 »: »
» 1,6 »: »	» 1,6 »: »
» 1,3 »: neg.	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: »	» 1,0 »: »
e) Hefe 740.	e) Hefe 740.
Kap. 9,3 μ: pos.	Kap. 8,3 μ: pos.
» 6,1 »: »	» 6,7 »: »
» 5,0 »: »	» 5,0 »: »
» 4,2 »: neg.	» 4,2 »: neg.
» 3,4 »: »	» 3,4 »: »
f) Hefe-Saaz.	f) Hefe-Saaz.
Kap. 6,7 μ: pos.	Kap. 6,7 μ: pos.
» 5,0 »: »	» 5,0 »: »
» 4,2 »: »	» 4,2 »: »
» 3,4 »: neg.	» 3,4 »: neg.
» 2,4 »: »	» 2,4 »: »

b) Drucke von 50—100 Atm.

Da es mit dem Druck der Wasserleitung nicht möglich war, Bakterien durch feinste Kapillaren hindurchzupressen, könnte man sich fragen, ob nicht durch die Anwendung bedeutend höherer Drucke diese Erscheinung tatsächlich herbeigeführt werden kann. Wenn auch die Beantwortung dieser Frage für die Praxis der Filtration von geringer Bedeutung ist, so ist es doch immerhin von grofsem Interesse, auf experimentellem Wege diese Aufgabe zu lösen.

Vor allem aber schien mir die Anstellung dahin zielender Versuche deshalb von grofsem Werte, da durch die auf diesem Wege erhaltenen Resultate meine Untersuchungen über das Verhalten der Bakterien gegen feinste Kapillaren an Vollständigkeit bedeutend gewannen und das von mir entworfene Bild über diese interessanten Vorgänge ein noch viel deutlicheres wurde.

Bei der Wahl des anzuwendenden Druckes leitete mich besonders die Überlegung, dafs derselbe bedeutend höher sein mufste als der Wasserleitungsdruck. Es handelte sich aber darum, auf welche Weise der erforderliche Druck am besten zu erzeugen war. Den durch Kompression irgend eines Gases entstehenden Druck zu verwerten, war aus mehreren Gründen so gut wie ausgeschlossen. Erstens standen mir die dazu erforderlichen Apparate nicht zur Verfügung und zweitens ist die Anwendung stark komprimierter Gase wegen der Möglichkeit eines Zerspringens der Glasteile des Apparates mit grofsen Gefahren verbunden. Bei weitem bequemer und vor allem sicherer ist die Benutzung hydraulischer Drucke. Ich war in der angenehmen Lage, eine grofse hydraulische Presse benutzen zu dürfen, welche die Erzeugung eines Höchstdruckes von ca. 300 Atm. gestattete. Diese Presse war mit Glyzerinfüllung versehen, und um mich ihrer bei meinen Versuchen bedienen zu können, bedurfte es nur einer kleinen Änderung. Die von mir getroffene Anordnung der Versuche will ich im folgenden kurz beschreiben.

Zum Einfüllen des Glyzerins war an der Presse eine Schraube angebracht. Diese liefs ich durchbohren und mittels Differential-

gewindes eine aus dickwandigem, auf ca. 500 Atm. Druck geprüftem Messingrohr bestehende Druckleitung anbringen.

Es war unbedingt nötig, das Glyzerin von einer Berührung und Vermischung mit der Bakterienaufschwemmung fernzuhalten. Zu dem Zwecke schaltete ich direkt hinter die Druckleitung (siehe Fig. 5) eine **U**-förmig gebogene, starke Barometerkapillare ein, die durch Einkitten in eine Messinghülse mit dieser verbunden wurde. Durch eine 10—12 cm lange Quecksilbersäule wurde in dieser ca. 3 mm weiten Kapillare eine Trennung des Glyzerins von der Aufschwemmung bewirkt. Ähnlich wie bei den Versuchen mit Wasserleitungsdruck hätte ich die Barometerkapillare zu einer langen Spitze ausziehen können. Durch Ausübung eines geringen Druckes hätte das Quecksilber bis an das Ende derselben getrieben, ein darüber gesteckter Gummischlauch mit der Aufschwemmung gefüllt und diese durch Zurückbewegen des Druckstempels in das Rohr eingesaugt werden müssen. In die Spitze würde ich dann nach sorgfältigem Trocknen die feine Kapillare in der oben beschriebenen Weise eingekittet haben. Es wäre dies bei dem feststehenden Apparat eine schwer auszuführende Arbeit gewesen. Nach einer gröfseren Reihe von Versuchen hätte sich das Ausziehen einer neuen Spitze oder gar das Einkitten eines neuen **U**-Rohres an die Druckleitung nötig gemacht. Vor allem aber erlaubte mir diese Anordnung nicht ein Sterilisieren des Apparates vor der Benutzung einer anderen Bakterienart, was zur Erzielung genauer Resultate unbedingt erforderlich war. Diesem Umstande mufste ich in erster Linie Rechnung tragen, und ich glaube es durch die Konstruktion des in Fig. 4 im Längsschnitt dargestellten Apparates in genügender Weise getan zu haben.

Der eiserne Zylinder *A* ist zur Aufnahme der Aufschwemmung bestimmt und kann, wie aus der Fig. 5 skizzierten Gesamtanordnung des Versuches zu ersehen ist, mittels des Gewindes *C* in der eisernen Hülse *b* befestigt werden, in welche das Ende der Barometerkapillare eingekittet ist. Durch eine Vulkanfiberdichtung wird daselbst ein ganz vollkommener Abschlufs erreicht. Der Zylinder *A* kann durch den Deckel *D* ver-

schlossen werden, der auf denselben aufgeschraubt wird und mit einer Vulkanfiberdichtung versehen ist. In der Mitte dieses Deckels ist ein $1^1/_2$ cm langes eisernes Ansatzröhrchen *E* von ca. 3 mm innerem Durchmesser, in welches eine 8—9 cm lange und 1,5 mm weite Glaskapillare mittels Schellack eingekittet werden kann. In dem Ende derselben wird endlich die für den Versuch bestimmte feine Kapillare befestigt. Die Ausführung der Versuche geschah in der folgenden Weise.

Nachdem die Quecksilbersäule in das **U**-Rohr gebracht worden war, ohne dafs sich zwischen ihr und dem Glyzerin eine Luftblase befand, wurde über die eiserne Hülse *b* (Fig. 5) ein kurzer Gummischlauch gesteckt und das Quecksilber durch Ausübung eines geringen Druckes langsam bis in die Bohrung der Hülse getrieben. Ehe das Quecksilber bis ganz an das Ende

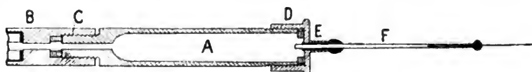


Fig. 4.

gelangt war, wurde der Schlauch mittels Spritzflasche mit destilliertem Wasser gefüllt und letzteres durch Zurückbewegen des Druckstempels in das Glasrohr eingesaugt, und zwar solange, bis zwischen dem Anfang der Quecksilbersäule und der Messinghülse *d* noch genügend Abstand blieb. Nun wurde der eiserne Zylinder vollkommen mit der Aufschwemmung gefüllt, der Deckel, in dessen Ansatzröhrchen die für den Versuch bestimmte Kapillare befestigt war, aufgeschraubt und mittels Zange fest angezogen. Darauf wurde der Zylinder in die Hülse *b* eingeschraubt. Um ein festes Anziehen der Schrauben zu ermöglichen, waren Zylinder *a* und Hülse *b* mit Einkerbungen versehen, so dafs man an ihnen die Schraubenschlüssel fest ansetzen konnte. In der bei den Versuchen mit Wasserleitungsdruck beschriebenen Weise wurde alsdann die Verbindung der feinen Kapillare mit dem zur Aufnahme der Nährlösung bestimmten Röhrchen *c* hergestellt.

Bei den ersten Versuchen wandte ich Drucke bis über 200 Atm. an. Es veranlafsten mich aber die fast immer, trotz gröfster Sorgfalt beim Einkitten des Glasröhrchens *F* (Fig. 4) und der feinen Kapillare, eintretenden Undichtheiten und das häufige Zerplatzen des Röhrchens *F*, von der Benutzung derartig hoher Drucke abzusehen und mich mit solchen von 50 bis 100 Atm. zu begnügen. Nicht nur an den eben genannten Teilen, sondern auch an den Kittstellen des U-Rohres in den Metallhülsen *b* und *d* kamen Tropfen zum Vorschein. Es läfst sich ja auch leicht denken, dafs die Schellackdichtungen, für die allerdings in diesem Falle kein Ersatz zu finden war, derartig hohen Drucken nicht standzuhalten vermögen.

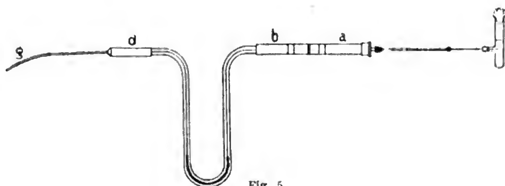


Fig. 5.

Bei den feinsten Kapillaren wandte ich Drucke von ungefähr 100 Atm., bei den weiteren von 50 Atm. an. Die Dauer der Einwirkung des Druckes betrug 10—15 Minuten. Die Nährlösung füllte ich aus oben bereits angegebenen Gründen erst einige Minuten nach Beginn des Versuches in das Gläschen *c* ein. War bei einem Versuche eine Undichtheit eingetreten, so konnte die Einwirkung des betreffenden Druckes nur solange dauern, bis das Quecksilber bis nahe an das Ende des U-Rohres vorgerückt war. Wenn nicht gerade ein Rifs im Schellack entstanden war, dauerte es immerhin eine genügend lange Zeit, ehe dies eintrat. Aus dem Grunde mufste zu Anfang eines jeden Versuches die Quecksilbersäule möglichst weit nach der Druckleitung hin zurückbewegt werden.

Am Ende des Versuches wurde die Kurbel der Presse soweit zurückgedreht, bis das Manometer auf 0 stand, die Kapil-

lare wie bei den Versuchen mit Wasserleitungsdruck abgebrochen, zugeschmolzen, und das Röhrchen *c* in den Brutschrank gestellt.

Das Auseinandernehmen des Apparates hatte deshalb mit grofser Vorsicht zu geschehen, weil immer noch ein beträchtlicher Überdruck vorhanden war. Die Kurbel der Presse mufste noch, ehe der Zylinder *a* abgeschraubt werden konnte, ein bestimmtes Stück zurückgedreht werden, um einen vollkommenen Ausgleich des Druckes herbeizuführen. Geschah dies zu reichlich, so wurde das Quecksilber beim Abschrauben des Zylinders *a* in die Druckleitung hineingesaugt, im anderen Falle wurde es herausgeschleudert. Der Zylinder *a* mufste deshalb nach einigen Drehungen der Kurbel vorsichtig gelockert und dabei die Bewegung der Quecksilbersäule genau beobachtet werden, um das Eintreten dieser unerwünschten Zufälle durch rasches entsprechendes Drehen der Kurbel zu vermeiden.

Nach Losschrauben des Zylinders *a* wurde der Deckel von demselben entfernt und das Innere mit destilliertem Wasser ausgespült. Von dem Glasröhrchen *F* wurde das vom Schellack erfüllte Ende abgebrochen und nach vorherigem vorsichtigen Trocknen des Röhrchens in einer Flamme die Kapillare für den nächsten Versuch eingekittet. Ein Röhrchen reichte in der Regel für 4—6 Versuche.

Sollten Versuche mit einer anderen Bakterienart angestellt werden, so wurde nach vorherigem Sterilisieren des Zylinders *a* ein neues Röhrchen eingekittet. Die Vulkanfiberdichtung war meist durch eine gröfsere Anzahl von Versuchen schadhaft geworden, und es machte sich das Einlegen einer neuen nötig. Bei Anwendung dieser Vorsichtsmafsregeln war das Fehlschlagen eines Versuches durch Verunreinigung mit der zu den vorhergehenden Versuchen benutzten Bakterienart ausgeschlossen.

Ergebnis.

Die bei der grofsen Anzahl der von mir angestellten Versuche erzielten Ergebnisse will ich in der nachfolgenden Übersicht wiedergeben, und zum Vergleich die Ergebnisse der Untersuchungen über den Einflufs des Wasserleitungsdruckes gegenüberstellen.

a) Prodigiosus.

1. 50—100 Atm	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 1,6 μ: pos.	Kap. 1,6 μ: pos.
» 1,3 »: »	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: »	» 1,0 »: »
» 0,6 »: »	
» 0,5 »: neg.	
» 0,3 »: »	

b) Fluorescens.

1. 50—100 Atm.	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 1,6 μ: pos.	Kap. 1,6 μ: pos.
» 1,3 »: »	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: »	» 1,0 »: »
» 0,6 »: neg.	
» 0,3 »: »	

c) Heubazillus.

1 50—100 Atm.	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 3,4 μ: pos.	Kap. 3,4 μ: pos.
» 2,4 »: »	» 2,4 »: »
» 2,1 »: »	» 2,1 »: neg.
» 1,9 »: neg.	» 1,9 »: »
» 1,6 »: »	» 1,6 »: »

d) Ingwer-Kokken.

1. 50—100 Atm.	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 1,6 μ: pos.	Kap. 1,6 μ: pos.
» 1,3 »: »	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: neg.	» 1,0 »: »
» 0,6 »: »	

e) Hefe 740.

Kap. 5,0 μ: pos.	Kap. 5,0 μ: pos.
» 4,6 »: »	» 4,6 »: neg.
» 4,2 »: neg.	» 4,2 »: »
» 3,4 »: »	» 3,4 »: »

f) Hefe-Saaz.

Kap. 4,6 μ: pos.	Kap. 5,0 μ: pos.
» 4,2 »: »	» 4,2 »: »
» 3,8 »: »	» 3,8 »: neg.
» 3,0 »: neg.	» 3,0 »: »

Durch diese Versuche ist vor allem der Beweis dafür geführt worden, dafs unter der Einwirkung hoher Drucke die Bakterien durch noch engere Kapillaren hindurchgeprefst werden, als es mit dem Wasserleitungsdruck möglich war. Vor allem aber hat sich die interessante Tatsache ergeben, dafs es selbst bei der Anwendung so bedeutender Drucke nicht gelingt, die Bakterien durch die engsten Kapillaren hindurchzupressen. Für die verschiedenen Arten haben sich wiederum ganz bestimmte Grenzen ergeben, unterhalb derer ein Eindringen der Bakterien nicht stattfindet. Vergleicht man diese Grenzen mit den bei der Untersuchung mit Wasserleitungsdruck erhaltenen, so bemerkt man, dafs bei den vorliegenden Versuchsergebnissen ein gröfserer Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Bakterienarten zutage tritt als bei jenen. In diesem Falle spielt die Gröfse der Bakterien eine deutliche Rolle, und es handelt sich um ein rein mechanisches Zurückhalten, während bei den vorigen Versuchen physiologische Momente in Betracht kamen. Für drei in bezug auf ihre Gröfse so verschiedene Arten, wie Bacillus prodigiosus, Bacillus fluorescens und die Ingwer-Kokken, konnte ich bei den vorigen Untersuchungen genau dieselbe Grenze feststellen, während hier ein deutlicher Unterschied zu bemerken ist. Die von mir für diese Arten festgestellten Grenzen, unterhalb derer ein Eindringen auf keinen Fall stattfindet, sind folgende:

0,6 μ für Bacillus prodigiosus,
1,0 » für Bacillus fluorescens,
1,3 » für die Ingwer-Kokken.

Man könnte die Frage aufwerfen, ob die Lebenstätigkeit der Bakterien durch die Einwirkung hoher Drucke eine Schädigung erleidet. Von verschiedenen Forschern sind bereits dahin gehende Versuche ausgeführt worden, und es hat sich die Tatsache herausgestellt, dafs dies keineswegs der Fall ist. Es benutzten Krause[3]) Drucke bis zu 500 Atm., Chlopin und Tamman[1]) sogar bis 2900 Atm., ohne eine Schädigung der Bakterien feststellen zu können.

Das Verhalten der Bakterien gegen künstliche Membranen.

Der Gedanke, dafs fein verteilte chemische Niederschläge vermöge ihrer Dichtheit in ausgedehntem Mafse die Fähigkeit besitzen, in einer Flüssigkeit enthaltene Bakterien an ihrer Oberfläche zurückzuhalten, hat schon vielen Forschern die Veranlassung zu eingehenden Untersuchungen gegeben. So suchte man durch fein verteiltes Aluminiumhydroxyd die oberflächliche Schlammschicht der Sandfilter zu ersetzen, indem man dem Rohwasser Aluminiumsulfat zufügte. Bei den Hausfiltern hat man durch Zusatz fein verteilter Substanzen zum Rohwasser das gleiche zu erreichen versucht. Diese Substanzen setzten sich allmählich auf der Oberfläche des Filters ab und bildeten eine feinporige Schicht, was allerdings die Dauer der Wirksamkeit des Filters wesentlich verkürzte.

Der Versuch, durch Erzeugung von chemischen Niederschlägen innerhalb der Zellwandungen die Leistungsfähigkeit der Kleinfilter zu erhöhen, ist bis jetzt noch von keiner Seite ausgeführt worden. Und doch ist es von grofsem Interesse, den Einflufs dieser Niederschläge auf den Durchtritt der Bakterien kennen zu lernen.

Es hätte mich zu weit geführt, das Verhalten der Bakterien gegen chemische Niederschläge, wie z. B. das bei den Sandfiltern benützte Aluminiumhydroxyd, festzustellen. Ich hatte vielmehr die Absicht, die Bakteriendurchlässigkeit von chemischen Niederschlägen zu untersuchen, die sich innerhalb der Zellwandungen befinden und sich durch grofse Feinheit der Schicht auszeichnen. Sie sind in Gestalt der sog. künstlichen Membranen seit langem bekannt und werden wegen der Erscheinungen des osmotischen Druckes für physikalisch-chemische Untersuchungen viel verwendet. Bekanntlich besitzen diese sog. halbdurchlässigen Membranen die interessante Eigenschaft, dem Lösungsmittel, nicht aber der gelösten Substanz den Durchtritt zu gestatten. Von der gröfseren Zahl dieser Membranen schien mir wegen ihrer meist sicher gelingenden Herstellung die Ferrocyankupfermembran für meine Untersuchungen am geeignetsten.

Zu den Versuchen benutzte ich Haldenwangersche Tonzellen von der oben beschriebenen Form. Die Herstellung der Ferrocyankupfermembran geschah zuerst nach der Vorschrift von Pfeffer[18]). Da ich nach diesen Angaben keine guten Resultate erzielte, bediente ich mich der von Lüpke[18]) gegebenen Vorschrift, nach welcher ich gute Erfolge zu verzeichnen hatte. Die Zellen wurden vollkommen mit Wasser durchtränkt, darauf mit einer ca. 3proz. Ferrocyankaliumlösung gefüllt, mit einem höchstens 1 cm tief eingesetzten Gummistopfen verschlossen, der mit einer beiderseits offenen Glasröhre versehen war, und bis an den Rand in ca. 3proz. Kupfersulfatlösung getaucht. In dieser blieben die Zellen ca. 8 Tage stehen und wurden dann gründlich gewässert.

Ehe ich nun das Verhalten der Bakterien gegen diese so hergestellten künstlichen Membranen untersuchte, mufste ich sie vor allem auf ihre Dichtheit prüfen, d. h. feststellen, ob dieselben der gelösten Substanz auch wirklich den Durchtritt verwehrten. Zu dem Zwecke füllte ich die Zellen mit 50proz. Rohrzuckerlösung, verschlofs sie durch einen mit Steigrohr versehenen Gummistopfen und stellte sie soweit in destilliertes Wasser, dafs der Hals der Zelle zum gröfsten Teil frei blieb. Nach 24 Stunden wurde das aufsen befindliche Wasser auf 100 ccm aufgefüllt, filtriert und durch Polarisieren der Zuckergehalt festgestellt. Nur bei einigen Zellen betrug derselbe 0,03—0,05 %, während bei den anderen eine Drehung nicht stattfand, die Zellen sich also als absolut dicht erwiesen.

Zu bemerken wäre noch die interessante Wahrnehmung, dafs die Membranen selbst nach mehreren Monaten durch wiederholtes Auskochen und Sterilisieren im Autoklaven und durch die Stoffwechselprodukte der Bakterien nicht den geringsten Schaden erlitten.

Bei den Versuchen bediente ich mich wieder der in Fig. 1 dargestellten Anordnung. Als Nährlösung wandte ich wie früher 1proz. Fleischextraktbouillon an. Da bei den früheren Versuchen Bacillus prodigiosus die Tonzellen in der kürzesten Zeit durchwanderte, schien er mir zu diesen Versuchen besonders

geeignet, weil mit ihm bei weitem schnellere und sicherere Resultate zu erzielen waren als mit den anderen Arten. Die Apparate wurden nach dem Einfüllen der Bakterienaufschwemmung in den Brutschrank gestellt und täglich kontrolliert.

Ergebnis der Versuche.

Es ergab sich die interessante Tatsache, dafs durch die Zellen, welche sich als absolut dicht erwiesen hatten, Bacillus prodigiosus selbst nach mehreren Wochen nicht hindurchwuchs. Durch die anderen jedoch, bei denen ich eine ganz geringe Undichtheit nachgewiesen hatte, wuchs er in ca. 8—14 Tagen hindurch. Doch trat dies nicht immer ein, sondern ich habe einige Fälle beobachtet, wo er derartige Zellen selbst nach mehreren Wochen nicht durchdrang. Die Erklärung hierfür ist nur darin zu suchen, dafs die undichte Stelle nicht von der Nährlösung berührt wurde, sondern sich am Hals der betreffenden Zellen befand, wo allerdings bei der Prüfung auf Dichtheit eine Diffusion des Zuckers möglich war.

Das Durchwachsen von Bacillus prodigiosus durch eine Membranzelle mit geringer Undichtheit (0,03 proz. Zucker) wurde dadurch wesentlich beschleunigt, dafs in das Innere der Zelle Peptonwasser, aufsen aber Bouillon gebracht wurde. Während Bacillus prodigiosus bei der gewöhnlichen Anordnung zum Durchdringen der betreffenden Membranzelle 12 Tage brauchte, fand im letzteren Falle bereits nach 5 Tagen ein Durchwachsen statt. Dadurch, dafs aufsen eine ungleich bessere Nährlösung vorhanden war, wurde auf den Bazillus ein Reiz ausgeübt, der ein schnelleres Durchwachsen zur Folge hatte.

Um einen Vergleich mit einer anderen Bakterienart anzustellen, setzte ich einige Membranzellen, die bereits zu Versuchen mit Prodigiosus gedient hatten, nach vorheriger Sterilisation mit Bacillus fluorescens an. Es zeigte sich, dafs dieser selbst nach ca. 6 Wochen nicht durch die Membranen hindurchtrat, selbst durch die nicht, die Bacillus prodigiosus in 10 Tagen durchdrungen hatte. Trotz seiner schnellen Eigenbewegung und ver-

hältnismäfsig geringen Gröfse ist Bacillus fluorescens nicht imstande, die Membranen zu durchdringen. Ich glaube aus dieser Tatsache den Schlufs ziehen zu dürfen, dafs die Undichtheiten der Ferrocyankupfermembran von derartig geringer Ausdehnung waren, dafs nur ein Bazillus von der Gröfse des Prodigiosus durch sie hindurch gelangen konnte.

Um genauen Aufschlufs über die Stärke und Gestalt der Membranen zu erlangen, bediente ich mich wieder der Dünnschliffe, die in der oben beschriebenen Weise hergestellt wurden. Zertrümmerte man eine Zelle, so war die Membran ganz genau in der Mitte der Zellwandung als feiner gleichmäfsiger, dunkelbrauner Strich zu erkennen. Bei schwacher, ca. 50facher Vergröfserung des Dünnschliffes zeigte es sich aber (vergl. Tafel IV, Fig. 4), dafs sie von sehr verschiedener Ausdehnung war. Teilweise waren die Poren der Zellen vom Niederschlag ausgefüllt, an anderen Stellen war die Stärke der Membran sehr gering. Wie ich mit der Ölimmersion feststellte, schwankte die Stärke der Membran zwischen ungefähr 8—70 μ. Bei dieser ca. 800fachen Vergröfserung waren auch in der Membran Poren von grofser Feinheit zu bemerken, die aber nur eine geringe Länge besafsen.

Es wäre von grofsem Interesse gewesen, in einem derartigen Dünnschliffe die Bakterien zu färben, um deren eventuelle Ansammlung an der inneren Seite der Membran vor Augen zu führen. Leider war mir dies wegen der äufserst geringen Haltbarkeit dieser Schliffe und aus den oben angeführten Gründen nicht möglich, da sich Bacillus prodigiosus und Bacillus fluorescens nicht nach Gram färben lassen. Und mit einer gewöhnlichen Färbemethode ist es, wie ich feststellen konnte, ausgeschlossen, gute Bilder zu erhalten, da das Ausziehen des Farbstoffes mittels Alkohol aus den Partien, die ungefärbt erscheinen sollen, nur unvollkommen geschieht.

Das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung über das Verhalten der Bakterien gegen künstliche Membranen läfst sich dahin zusammenfassen, dafs eine absolut dichte Ferrocyankupfermembran den Bakterien auf keinen Fall den

Durchtritt gestattet, dafs aber schon eine minimale Undichtheit derselben genügt, um ein Hindurchtreten der Bakterien zu ermöglichen.

Man könnte die Frage aufwerfen, ob dieses Ergebnis irgend welche praktische Bedeutung für die Wasserfiltration hat. Versucht man durch eine derartige, absolut dichte Membranzelle Wasser zu filtrieren, so gehört ein beträchtlicher Druck dazu, um dies zu erreichen. Aufserdem steigt bei Erhöhung des Druckes die Möglichkeit einer Zerstörung der Membran. Eine praktische Anwendung der Membranzellen für Zwecke der Wasserfiltration ist daher ausgeschlossen. In bezug auf Keimdichtheit würden diese Zellen nahezu ideal zu nennen sein, in Hinsicht auf die Menge des gelieferten Filtrates würde ihre Verwendung aber nicht in Frage kommen.

Zusammenfassung.

Die Hauptergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich in folgendem zusammenfassen:

1. Die Zeit, in welcher ein Filter von einer bestimmten Bakterienart durchdrungen wird, ist in hohem Mafse abhängig von der Bewegungsfähigkeit und Gröfse der betreffenden Bakterienart.
2. Aufser den grofsen Poren besitzen die Kleinfilter auch solche von grofser Feinheit, deren Vorhandensein durch die Anordnung der Bakterien in gefärbten Präparaten von Zellschliffen bewiesen wird.
3. Für das Eindringen von Bakterien in feinste mit Nährlösung gefüllte Kapillaren bestehen bestimmte Grenzen; der Unterschied derselben ist im Vergleich zur Verschiedenheit der Gröfse der angewandten Bakterienarten nur sehr gering.
4. Ein Hineindrängen der Bakterien in mit Nährlösung gefüllte Kapillaren, deren Durchmesser unterhalb der bestimmten Grenzen von 1,6—1,9 μ liegen, findet nicht statt.

5. Für das Einsaugen von Bakterien in leere Kapillaren bestehen gleichfalls bestimmte Grenzen von 1,6—2,3 μ, unterhalb derer ein Eindringen der Bakterien nicht mehr stattfindet.

6. Die Zeiten, in denen mit Nährlösung gefüllte Kapillaren von Bakterien durchdrungen werden, sind in hohem Maſse abhängig von den Durchmessern der Kapillaren. Sie werden ferner wesentlich bestimmt durch die Gröſse und Bewegungsfähigkeit der betreffenden Bakterienarten.

7. Unter Einwirkung eines Druckes von 3 Atm. gelingt es nicht, Bakterien durch Kapillaren hindurchzupressen, durch die sie freiwillig nicht hindurchgegangen sind.

8. Durch Anwendung hoher Drucke von 50—100 Atm. werden die Bakterien durch noch engere Kapillaren hindurchgepreſst, als durch Wasserleitungsdruck. Auch hier bestehen für die verschiedenen Arten bestimmte Grenzen von 0,6—2,1 μ, unterhalb derer ein Hindurchgehen der Bakterien auf keinen Fall stattfindet. Diese Grenzen werden in der Hauptsache bedingt durch die Gröſse der betreffenden Bakterienarten. Durch Kapillaren unter 0,4 μ Durchmesser sind Bakterien unter keinen Umständen hindurchzutreiben.

9. Absolut dichte künstliche (Ferrocyankupfer-) Membranen gestatten den Bakterien auf keinen Fall den Durchtritt.

10. Das physikalische Verhalten derartiger absolut keimdichter Membranen schlieſst ihre praktische Verwertbarkeit für die Filtration aus, wie überhaupt Filter, deren Poren kleiner sind als die kleinsten Keime, zur Filtration nicht verwendet werden können, da durch sie Wasser nur unter Anwendung sehr hoher Drucke hindurchgeht.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Februar 1904 bis Januar 1905 im Hygienischen Institut der Kgl. S. Technischen Hochschule zu Dresden ausgeführt.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. med. Renk für die gütige Überlassung des Themas, sowie meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. med. K. Wolf, meinen verbindlichsten Dank für die mir zu jeder Zeit in liebenswürdigster Weise gewährte Unterstützung bei meinen Arbeiten auszusprechen.

Literatur.

1. Chlopin u. Tamman, »Über den Einfluß hoher Drucke auf Mikroorganismen«. Zeitschrift f. Hygiene, 1903, Bd. 45.
2. v. Esmarch, E., »Über kleinste Bakterien und das Durchwachsen von Filtern«. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1902, Bd. 32.
3. Fränkel u Piefke, »Versuche über die Leistungen der Sandfiltration«. Zeitschrift f. Hygiene, 1890, Bd. 8.
4. Gruber, M., »Gesichtspunkte für die Prüfung und Beurteilung von Wasserfiltern«. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1893, Bd. 14.
5. Hesse, G., »Beiträge zur Herstellung von Nährböden und Bakterienzüchtung«. Zeitschrift f. Hygiene, 1904, Bd. 26.
6. Hesse, W., »Über Wasserfiltration«. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1885.
7. Hesse, W., »Über Wasserfiltration«. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 1, S. 178.
8. Kirchner, M., Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Berkefeld-Filter aus gebr. Infusorienerde«. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 14 u. 15.
9. Krause, Zentralblatt f. Bakteriologie, 0. Bd. 31.
10. Kübler, »Untersuchung über die Brauchbarkeit der Filtres sans pression, Système Chamberland-Pasteur«. Zeitschrift f. Hygiene, 1890. Bd. 8.
11. Landolt, H., Physikalisch-Chemische Tabellen.
12. Lübbert, Pharmazeutische Zentralhalle, 1891, Nr. 39 u. 40.
13. Lüpke, R., Grundzüge der Elektrochemie. Berlin 1896.
14. Miller, W. D., Mikroorganismen der Mundhöhle.
15. Möller, Tageblatt d. 59. Versammlung deutsch. Naturforscher u. Ärzte. 1886.
16. Pfeffer, W., »Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize«. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut Tübingen, Bd. 1.
17. Pfeffer, W., Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvozineen«. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut Tübingen. Bd. 2.
18. Pfeffer, W., Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.
19. Plagge, Tageblatt der 59. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte. 1886, S. 323.
20. Pukall, W., »Über Tonfilter, ihre Eigenschaften und ihre Verwendbarkeit in chemischen und bakteriologischen Laboratorien«. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1893.
21. Schöfer, H., »Über das Verhalten von pathogenen Keimen in Kleinfiltern«, Zentralblatt f. Bakteriologie, 1893, Bd. 14.

Beitrag zur Wirkung von Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft.

(Infektion der vorderen Augenkammer mit abgewogenen kleinsten Tb.-Mengen.)

Von

Dr. **Richard Link,**

Privatdozent für innere Medizin, Assistenzarzt an der medizinischen Klinik.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

Die sowohl in theoretischer wie in praktischer Beziehung so aufserordentlich wichtige Frage nach der Identität oder Nichtidentität der Erreger der menschlichen und der Rindertuberkulose, dieser zwei klinisch so verschiedenen Krankheitsbilder, ist auch heutzutage noch immer nicht in einer allgemein anerkannten Weise gelöst. Noch immer steht der Ansicht: beide Krankheitserreger sind identisch, und das verschiedene Krankheitsbild beruht nur auf der Verschiedenheit der beiden Organismen — die andere gegenüber: beide Krankheitserreger sind, wenn auch nicht kulturell und morphologisch, so doch biologisch verschieden, und erzeugen deshalb verschiedene Krankheitsbilder.

Um die Wirkungsweise bzw. die Verschiedenheit derselben bei genau abgewogenen kleinsten Mengen von Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft festzustellen, schlugen wir folgende Versuchsanordnung ein: In eine vordere Augenkammer[1]) von 18 tun-

---

1) Die Operation an den Augen führte Herr Privatdozent Dr. Stock, I. Assistent an der Universitäts-Augenklinik aus. Für diese Unterstützung sage ich ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank, ebenso den chemischen Assistenten am Hygienischen Institut, Herrn Krause und Theobold, für die Wägungen der zu den Operationen verwendeten kleinsten Mengen von Tuberkelbazillen-Kulturen.

lichst gleichartigen Kaninchen wurden chemisch genau abgewogene Stückchen von Tuberkelbazillenkulturen eingebracht, und nun der Verlauf der sich einstellenden tuberkulösen Entzündung sowohl im Auge selbst wie auch hinsichtlich der später eintretenden Allgemeininfektion beobachtet.

Zwei Reihen von Versuchen mit je neun Kaninchen wurden angestellt; es kamen Mengen von 0,0001 bis 0,0002 g Tuberkelbazillenkultur zur Verwendung, wobei es besondere Schwierigkeiten machte, diese kleinsten Portionen in einem Stück zu erhalten. — Was die verwendeten Kulturen von Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft betrifft, so stammte das als menschliche Tuberkelbazillen bezeichnete Infektionsmaterial von einem schwer kranken Phthysiker, der sich im hiesigen klinischen Hospital in Behandlung befand, und aus dessen Sputum nach einmaliger Passage durchs Meerschweinchen die Reinkulturen gewonnen waren. Die typische Kultur der Perlsuchtbazillen verdanken wir Herrn Professor v. Behring in Marburg, welcher sie uns durch seinen Assistenten Herrn Dr. Römer überliefs.

Als Kontrolltiere wurden je einem Meerschweinchen am 5. November 1904 je 1 ccm einer Emulsion der beiden Bazillenarten in die Bauchhöhle injiziert. Das mit den menschlichen Tuberkelbazillen infizierte Tier starb schon nach 23 Tagen und zeigte das gewöhnliche Bild einer generalisierten Tuberkulose mit linksseitigem pleuritischem Ergufs. Das mit den Perlsuchtbazillen behandelte Meerschweinchen dagegen wurde am 9. März 1905 bei noch verhältnismäfsig gutem Allgemeinbefinden getötet. Es zeigte eine nicht sehr hochgradige generalisierte Tuberkulose. Da der Verlauf der Infektion von Meerschweinchen meist ein schwererer ist bei den Perlsuchtbazillen, so wird das hier beobachtete umgekehrte Verhalten vielleicht auf Zufälligkeiten beruhen; denkbar wäre auch, dafs die Meerschweinchenpassage der menschlichen Tuberkelbazillen als virulenzvermehrend hier in Betracht käme.

Das Nähere über Versuchsanordnung, Verlauf und den Obduktionsbefund geht aus den beigefügten zwei Tabellen hervor.

A. Versuche mit Bazillen der menschlichen Tuberkulose.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	I	II	III
Datum der Infektion	15. I. 04.	15. I. 04.	15. I. 04
Anfangsgewicht . . .	1950 g	2200 g	2240 mg
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge. .	0,2 mg	0,15 mg	0,1 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris sind nach 9 Tagen kleinste miliare Knötchen in derselben aufgetreten, die allmählich gröfser werden. Die Kornea wird im Februar trüb, nekrotisch, perforiert. Der Bulbus verkäst. 20. V. bei verhältnismäfsig gutem Allgemeinbefinden getötet.	Bis Ende Januar entwickelt sich ein $^1/_3$ der Vorderkammer einnehmendes Hypopyon mit schwerer Iritis mit massenhaften Knötchen. Die Kornea wird trüb, dann nach vorübergehender Besserung nekrotisch, perforiert. Der Bulbus verkäst. 20. V. bei verhältnismäfsig gutem Allgemeinbefinden getötet.	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris sind nach 9 Tagen kleinste miliare Knötchen in derselben aufgetreten, die dann an Zahl zunehmen und sich vergröfsern. Vorderkammer voll Fibrin. Die Iritis wird stärker, die Kornea trüb, perforiert. Der Bulbus verkäst. 16. III. gestorben.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Zahlreiche graue Knötchen mit gelben Einsprengungen. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Graue Knötchen, am Rand konfluiert; hier gelb gefärbt. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Schwere Tuberkulose. Milz: Frei. Nieren: Einzelne Tuberkel. Leber: Frei.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	IV	V	VI
Datum der Infektion	15. I. 04	15. I. 04	15. I. 04
Anfangsgewicht . . .	2390 g	2780 g	2520 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge .	0,1 mg	0,1 mg	0,11 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris und etwas Exsudat in der Vorderkammer treten zunächst einzelne, dann Anfang Februar mehr Knötchen in der Iris auf. Diese werden gröfser, die Kornea dann trüb, nekrotisch, perforiert Anfang März durchs Oberlid. Der Bulbus verkäst.	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris und dann Entwicklung eines grofsen Hypopyons treten massenhafte Knötchen auf. Die Kornea wird schnell nekrotisch perforiert. Vom Bulbus ist schliefslich nur mehr eine granulierende Fläche übrig.	Während anfangs nur ein fibrinöses Exsudat entsteht, treten erst Anfang Februar zahlreichere Knötchen in der Iris auf. Die Hornhaut wird trüb, vascularisiert, erst Ende März perforiert. Der Bulbus verkäst.
	18. III. gestorben. Grofser tuberkulöser Abszefs auf der Nase.	20. V. bei schlechtem Allgemeinbefinden getötet.	20. V. bei etwas besserem Allgemeinbefinden als V getötet.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Nicht sehr starke Tuberkulose. Betroffen besonders die oberen Teile. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: rechts in der Mitte einige Knötchen, links grofser Abszefs. Milz: Frei. Nieren: rechts ein Knötchen, links frei. Leber: Frei.	Auge verkäst. Lungen: $r > l$ zahlreiche graue und gelbe Knötchen zum Teil konfluiert. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »

Lfd. Nr. d. Kaninchen	VII	VIII	IX
Datum der Infektion	5. XI. 04	5. XI. 04	5. XI. 04
Anfangsgewicht . . .	2820 g	2820 g	3070 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge .	0,1 mg	0,1 mg	0,15 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	In den ersten 8 Tagen entwickelt sich starke Injektion und Schwellung der Iris und Trübung der Hornhaut. Dann tritt vorübergehend Hypopyon auf. Die Hornhaut wird stärker trüb, perforiert; der Bulbus verkäst.	In den ersten 8 Tagen entwickelt sich eine Konjunktivitis, Keratitis, Iritis. Dann treten knötchenförmige Bildungen an der Hornhaut auf. Diese wird trüb, wölbt sich vor, wird perforiert; der Bulbus verkäst.	Es entsteht eine Iritis mit 3 allmählich wachsenden Knötchen. Die Hornhaut trübt sich schnell, wird perforiert und der Bulbus verkäst.
	9. III. 05 bei gutem Allgemeinbefinden (Gewicht 2910 g) getötet.	9. III. 05 bei ziemlich gutem Allgemeinbefinden (Gewicht 3050 g) getötet.	9. III. 05 bei schlechtem Allgemeinbefinden (Gewicht 2480 g) getötet.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Beiderseits wenig miliare graue, durchscheinende Knötchen ohne Verkäsung. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Beiderseits Knötchen, gröfser als bei VII, zum Teil verkäst. Milz: miliare Knötchen. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Beiderseits serofibrinöse Pleuritis. Lungen fast völlig tuberkulös verändert und verkäst. Sehr wenig Gewebe mehr übrig. Milz: miliare Knötchen. Nieren: frei. Leber: »

B. Versuche mit Perlsuchtbazillen.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	X	XI	XII
Datum der Infektion	20 II. 04	20. II 04	20. II. 04
Anfangsgewicht . . .	1805 g	1890 g	2075 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge.	0,2 mg	0,1 mg	0,2 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	Es entsteht nur Vascularisation und Schwellung der Iris ohne Knötchenbildung. Diese nimmt zu, es tritt Exsudat hinzu und Keratitis parenchymatosa. Ende März ist die Hornhaut perforiert, der Bulbus verkäst.	Es entsteht zunächst nur Vascularisation und Schwellung der Iris, die allmählich zunimmt. Erst Ende März ist ein weifser Herd in der Iris zu sehen. Es entwickelt sich eine Keratitis parenchymatosa, die Hornhaut wird perforiert, der Bulbus verkäst.	Es entsteht zunächst nur Schwellung und Vascularisation der Iris ohne Knötchenbildung, die allmählich zunimmt. Erst Ende März ist ein kleiner graugelber Herd in der Iris zu sehen. Die Kornea wird erst später diffus parenchymatös getrübt und perforiert. Der Bulbus verkäst.
	20. V. 04 bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden getötet.	20. V. 04 bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden getötet.	20. V. 04 bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden getötet. Abszefs am rechten Bein.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Grofse teils graue, teils gelbe Knoten. Milz: Grofse gelbliche Knoten. Nieren: 2—3 gelbliche Knoten. Leber: frei.	Auge verkäst. Lungen: Grofse, graue Knoten mit käsigen Einsprengungen. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Grofse graue Knoten mit käsigen Einsprengungen. Milz: Kleine Knötchen. Nieren: Kleine Knötchen. Leber: Frei.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	XIII	XIV	XV
Datum der Infektion	5. XI. 04	5. XI. 04	5. XI. 04
Anfangsgewicht . . .	3750 g	3200 g	2700 g
Gew. d eingebrachten Bakterienmenge . .	0,15 g	0,1 mg	0,1 mg
Verlauf d. Infektion an den Augen . . .	Es entsteht zunächst eine Iritis ohne Knötchenbildung, sowie parenchymatöse Keratitis. Ende November sind undeutlich einige Knötchen in der Iris zu erkennen. Die Hornhaut stark trüb, vorgewölbt, Mitte Dezember perforiert. Der Bulbus verkäst.	Es entsteht zunächst etwas Iritis und Keratitis. Ende November sind zahlreiche Knötchen zu sehen. Dann trübt sich die Hornhaut schnell, wird sehr stark vascularisiert. Dahinter käsige Massen.	Es entsteht eine Iritis mit 2 Knötchen, die langsam wachsen. Ende November ist die Hornhaut in toto trüb, vascularisiert, wird Anfang Dezember perforiert. Der Bulbus verkäst.
	15 I. 05 gestorben (Gewicht 13. I. 2520 g.)	1. II. 05 gestorben. (Gewicht 30. I. 2670 g.)	4. II. 05 gestorben. (Gewicht 30. I. 2270 g.)
Befund	Auge verkäst. Lungen: Bis kirschkerngrofse Knoten mit sehr starker Verkäsung, teilweise käsige Pneumonie. Milz: Zahlreiche kleine Knötchen. Nieren: Zahlreiche bis gerstenkorngrofse Knötchen $l > r$. Leber: Frei.	Auge verkäst Lungen: Bis erbsengrofse, stark verkäste Knoten. Milz: Frei. Nieren: Bis gerstenkerngrofse Knoten. Leber: Frei.	Auge verkäst. Lungen: Bis erbsengrofse stark verkäste Knoten. Milz: Ganz kleine Knötchen. Nieren: Bis erbsengrofse, zentral verkäste Knoten. Leber: Frei.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	XVI	XVII	XVIII
Datum der Infektion	5. XI. 04	5. XI. 04	5. XI. 04
Anfangsgewicht . . .	2600 g	2370 g	2170 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge .	0,2 mg	0,2 mg	0,2 mg
Verlauf d. Infektion an den Augen	Es entsteht eine starke Iritis und Keratitis mit starker Trübung und Vascularisation der Hornhaut. Bei einigen Knötchen läfst sich nicht genau erkennen, ob sie Bazillenhaufen oder Tuberkel sind. Die Hornhaut wird sehr schnell perforiert, der Bulbus verkäst.	Es entsteht eine starke Iritis, ohne dafs Knötchen sichtbar werden, und eine heftige Keratitis. Die Hornhaut wird stark parenchymatös getrübt und vascularisiert und Mitte Dezember perforiert. Der Bulbus verkäst.	Bis Mitte November hat sich eine schwere Konjunktivitis und Keratitis parenchymatosa entwickelt, so dafs von der Iris, die ebenfalls starke Entzündungserscheinungen zeigte, nur mehr der obere Teil zu sehen ist. Keine Knötchenbildung. An Stelle der Hornhaut ist Ende November nur mehr eine völlig vascularisierte, bindegewebige Masse zu sehen, die dann perforiert wird.
	25. XII. 04 gestorben. (Gewicht 16. XII. 2600 g, nach vorheriger Abnahme bis 2320 g.)	28. I. 05 gestorben. (Gewicht 13. I. 2320 g.	12. XII. 04 gestorben. (Gewicht 2. XII. 1900 g.)
Befund	Auge verkäst Doppelseitiger, grofser, pleuritischer Ergufs. Pericarditis exsudativa und Ascites. Lungen: Kleine Knötchen. Milz: Frei. Nieren: Kleinste Knötchen. Leber: Frei.	Auge verkäst. Doppelseitiger pleuritischer Ergufs. Lungen: Schwerste konfluierende Tuberkulose mit sehr starker Verkäsung. Kaum mehr normales Gewebe vorhanden. Milz: Kleinere Knötchen. Nieren: Beiderseits fast kleine erbsengrofse Knoten. Leber: Frei.	Auge verkäst. Lungen: Bis gerstenkerngrofse Knoten. Milz: Kleinere Knoten. Nieren: Nur links ein Knötchen, rechts frei. Leber: Frei.

Bei sämtlichen Obduktionen der zur Untersuchung gelangenden Tiere wurde durch Ausstrichpräparate das Vorhandensein von Tuberkelbazillen festgestellt. Dabei erwiesen sich die Perlzuchtbazillen — entsprechend den von Kossel, Weber und Heufs[1]) mitgeteilten eigenen und den Befunden zahlreicher anderer Autoren — ebenso wie bei der Ausgangskultur stets als ziemlich kurze Stäbchen, die nie eine Spur von Körnelung zeigten, während die menschlichen Tuberkelbazillen mehrfach eine solche erkennen liefsen. — Mikroskopische Untersuchungen verschiedener von Tuberkulose befallener innerer Organe ergaben nichts Besonderes.

Bezüglich des Verlaufs der Tuberkulose an den Augen scheint mir ein Unterschied insofern zutage getreten zu sein, als bei der Infektion mit menschlichen Tuberkelbazillen die Knötchenbildung in den Vordergrund trat, während bei der mit Perlsuchtbazillen die diffus entzündlichen Erscheinungen — nicht etwa auf Wundinfektion beruhend — überwogen. Bei sieben von den neun Versuchstieren der ersten Reihe, der mit menschlichen Tuberkelbazillen infizierten, ist das Auftreten von meist massenhaften Knötchen vermerkt; bei einem der zwei anderen Tiere erschwerte die sehr früh, in den ersten acht Tagen auftretende Hornhauttrübung die Beurteilung. Bei nur fünf der mit Perlsuchtbazillen infizierten Tiere ist dagegen das Auftreten von Knötchen verzeichnet; bei drei sind es nur eins oder einzelne, bei einem sind es zahlreiche, bei einem sind sie in ihrer Art zweifelhaft. Eine starke Iritis mit erheblicher Schwellung und Vascularisation trat bei allen Versuchstieren dieser Reihe sehr bald auf.

Eine Abhängigkeit des Verlaufs der Krankheitserscheinungen von der Menge der eingebrachten Bazillen liefs sich weder an den Augen noch auch bei der Gesamtinfektion des Organismus nachweisen: es konnten keine Verschiedenheiten festgestellt werden zwischen den Fällen, welche nur mit 0,0001 und denen, welche mit 0,0002 g Kultur behandelt waren. Allerdings hatte z. B. Tier XVIII in der zweiten Reihe, das nach der überhaupt

1) Tuberkulose Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, 1. u. 3. Heft, 1904 u. 1905.

kürzesten Krankheitsdauer von 37 Tagen starb, 0,0002 g Kultur erhalten; dem steht aber Tier XVII gegenüber, das, mit der gleichen Menge infiziert, beinahe so lange lebt wie XIV, das nur 0,0001 g erhalten hatte. Es bedeutet ja auch 0,0001 g Trockenkultur für ein Kaninchen eine ganz enorme Bazillenmasse.

Der Allgemeinverlauf gestaltete sich bei den mit Perlsuchtbazillen infizierten Tieren schwerer als bei den mit menschlichen Tuberkelbazillen behandelten. Von ersteren starben sechs nach 37—87 Tagen, darunter die zwei bei Beginn der Versuche schwersten Tiere XIII und XIV; die anderen drei wurden nach 90 Tagen getötet, alle bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden. Von den letzteren dagegen starben nur zwei nach 61 und 63 Tagen, von den übrigen sieben wurden vier getötet nach 126, drei nach 124 Tagen. Vier von den sieben waren noch bei ziemlich gutem Allgemeinbefinden.

Bei sämtlichen Tieren trat eine Allgemeininfektion ein. Am stärksten waren stets die Lungen befallen; bei einem Tier (VII) fanden sich nur miliare graue Knötchen; bei allen andern waren die Veränderungen gröfser. Die schwersten Affektionen zeigten auch hier die mit Perlsuchtbazillen behandelten Kaninchen. — Frei blieb bis auf zwei Fälle (IX und XVI) die Pleura; stets frei blieb die Leber. Ascites fand sich nur einmal. Beteiligt waren die Milz und die Nieren — bei der menschlichen Tuberkulose in je zwei, bei der Perlsucht in je sechs bzw. acht Fällen. Unter den letzteren, den Nierenaffektionen der Perlsuchtreihe, sind bis erbsengrofse Knoten vermerkt. — Tier XI, das nach 90 Tagen noch intakte Milz und Nieren aufwies, mufs hier freilich im Vergleich mit den nach 124 bzw. 126 Tagen getöteten Tieren der Reihe mit menschlicher Tuberkulose ausscheiden.

Während somit an den Augen bei der Infektion mit Perlsuchtbazillen ein Überwiegen der diffus entzündlichen Erscheinungen gegenüber der sehr starken Knötchenbildung bei der Infektion mit menschlichen Tuberkelbazillen zu beobachten ist, tritt sowohl in bezug auf den Allgemeinverlauf als auch auf die Beteiligung der einzelnen Organe und der Ausdehnung des Krank-

heitsprozesses in denselben eine gröſsere Virulenz der verwendeten Perlsuchtkultur als der menschlichen Tuberkelbazillen für Kaninchen zutage. Es entspricht dieses Ergebnis bei der hier gewählten Versuchsanordnung durchaus dem von zahlreichen Autoren[1]) erhobenen Befund, wonach bei verschiedenen Übertragungsarten Perlsuchtbazillen für Kaninchen erheblich virulenter sind als menschliche Tuberkelbazillen.

Zum Schluſs ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Hofrat Professor Dr. Schottelius für die Anregung zu dieser Arbeit und seine freundliche Unterstützung bei Ausführung der Versuche meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

1) Kossel, Weber u. Heuſs, Vergleichende Untersuchungen über Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft, Tuberkulosearbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, 1. u. 3. Heft, 1904 u. 1905. Sonstige Literatur hier sowie bei:

A. v. Székely, Die Frage der Identität der menschlichen und Rindertuberkulose. Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 32, Nr. 6, 7 u. 8.

Ziegler, Artikel Tuberkulose in den Enzyklopädischen Jahrbüchern der gesamten Heilkunde. Neue Folge, Bd. 2.

P. Cornet u. A. Meyer, Tuberkulose im 2. Band des Handbuchs der pathogenen Mikroorganismen, herausgegeben von Wassermann u. Kolle.

Bakterizide Reagenzglasversuche mit Choleravibrionen.

Von

Prof. Dr. **Oskar Bail** und Dr. **Yonetaro Kikuchi.**

Assistenten des Institutes. Ōsaka (Japan).

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

Im Anfang dieses Jahres veröffentlichten Pfeiffer und Friedberger eine kurz gehaltene, aber anscheinend erschöpfende Mitteilung über Versuche, die Immunserumwirkung bei Choleravibrionen und Typhusbazillen durch Zugabe eines vorher mit den betreffenden Organismen behandelten Serums zu behindern. Ihre Versuche wurden in der Meerschweinchenbauchhöhle so angestellt, dafs ein vorher mit z. B. Choleravibrionen behandeltes Serum von Ziege, Kaninchen und Tauben, nicht aber von Meerschweinchen, nach Entfernung der Bakterien: 1. die untertödliche Dosis von Choleravibrionen tödlich zu machen, 2. die Wirkung eines gleichzeitig eingespritzten Immunserums, wenn auch nicht im vollen Umfange des Gesetzes der Multipla zu hindern vermochte.

Auf den ersten Blick schien hier eine auffallende Ähnlichkeit mit den von einem von uns studierten Choleraaggressinen vorzuliegen, doch ergibt eine nähere Überlegung tiefgreifende Unterschiede. Die wichtigsten davon sind, abgesehen von den gänzlich verschiedenen quantitativen Verhältnissen, die, dafs Pfeiffer und Friedberger das Meerschweinchenserum unfähig zur Aus-

lösung dieser Erscheinung fanden, während das Choleraaggressin gerade von Meerschweinchen stammt, ferner aber, dafs die mit Vibrionen behandelten Sera eine Vermehrung der Bazillen zuliefsen, während bei Anwendung von Aggressin in der sehr grofsen Mehrzahl der Fälle das Pfeiffersche Phänomen vollständig ablief und nur der Tod des Tieres mit keimarmer Bauchhöhle nicht verhindert wurde. Bei Typhus fand wenigstens Granulabildung neben Vermehrung statt. Ob trotz dieses Unterschiedes nicht doch ein Zusammenhang an der Wurzel zwischen dem Pfeiffer-Friedbergerschen und den Aggressinversuchen besteht, kann hier nicht weiter untersucht werden.

Pfeiffer und Friedberger konnten ausschliefsen, dafs diese Serumwirkung durch vitale Funktion der Bakterien herbeigeführt wird, ferner dafs zurückbleibende Vibrionenkörper die Ursache sein könnten. Weiter geben sie an, dafs in Lösung gegangene Bakterienleibessubstanz nicht an der Erscheinung beteiligt sein könnte, da auch erwärmtes ($^3/_4{}^h$ 58^0) Serum nach Bakterienbehandlung hemmend wirkt, und da Peritonealexsudat, das nach vorhergegangener Bakteriolyse reich an gelösten Bakterienleibern sein müfste, nichts davan erkennen läfst.

Bei Erklärung dieser eigenartigen Serumwirkung schliefsen Pfeiffer und Friedberger mit grofser Wahrscheinlichkeit das Zwischentreten von Antiambozeptoren und Antikomplementen, sowie von Komplementablenkung aus und neigen der Annahme zu, dafs es sich um noch nicht bekannte Serumstoffe (bakteriolytische Antagonisten) handeln könnte.

Die nachstehenden Versuche wurden zwar durch die Mitteilung von Pfeiffer und Friedberger unmittelbar veranlafst, aber sie waren von vornherein nicht etwa als Nachprüfung derselben angelegt, weshalb auch das Abwarten der ausführlichen Mitteilung von Pfeiffer und Friedberger nicht unbedingt erforderlich erschien. Während die genannten Autoren im Tierkörper arbeiteten, sind die eigenen Versuche ausschliefslich Reagenzglasversuche, die sich bis zu einem gewissen Grade an eine mehrere Jahre zurückliegende Arbeit des einen von uns anschlossen. Freilich dürften ihre Ergebnisse ziemlich unmittel-

bar auf die Meerschweinchenbauchhöhle übertragen werden können, da das Phänomen der Bakteriolyse daselbst schwerlich etwas anderes als ein unter besonderen Umständen angestellter Reagenzglasversuch sein kann. Tatsächlich stimmen auch die nachstehenden Versuchsresultate in sehr vielen Punkten mit denen Pfeiffer und Friedbergers überein, wenn gleich die Auslegung eine ganz andere sein mufs.

Pfeiffer und Friedberger schliefsen, wie erwähnt, aus, dafs die eigenartige Wirkung eines mit Bakterien behandelten Serums auf einer vitalen Funktion der Bakterien oder im Zurückbleiben von solchen nach dem Abzentrifugieren beruhen könnte. Ersteres ist ohne weiteres zu bestätigen, bei Begründung letzteren Punktes weichen die Reagenzglasversuche teilweise darin von den Tierversuchen ab, dafs »eine Kochsalzlösung, in der Bakterien emulsioniert waren, nach dem Abzentrifugieren der Bakterien nicht hemmend wirkt.« Der wichtigste Punkt ist aber der bereits oben erwähnte, dafs Leibessubstanzen nach Pfeiffer und Friedberger nicht in Lösung gegangen sein könnten, da hemmendes Serum ohne Bakteriolyse und umgekehrt keine Hemmungswirkung einer Flüssigkeit, in der vollständige Bakteriolyse stattgefunden hatte, erhalten werden könne. Hier gibt sich offenbar eine Lücke in den scharfsinnigen Schlufsfolgerungen der beiden Autoren kund. Denn dafür, dafs Leibessubstanz von Bakterien auch im Serum nur infolge von typischer Bakteriolyse in Lösung gehen könnte, fehlt jeder Beweis. Im Gegenteil ist schon seit langem eine sonstige Lösung von Bakterienleibern beobachtet oder angenommen worden, es sei an die Lösung durch Emmerichs Pyozyanase, an die freiwillige Auflösung älterer Bouillonkulturen erinnert und schliefslich an die sog. »freien Rezeptoren« von Neisser und Shiga[1]). Es ist zuzugeben, dafs man sich gerade von letzteren nicht leicht eine bestimmte Vorstellung machen kann, da es von vornherein nicht recht wahrscheinlich ist, dafs labile Gruppen des Bakterienkörpers sich loslösen und getrennt davon ein relativ selbständiges Dasein

1) Deutsche mediz. Wochenschrift, 1903, Nr. 4.

führen könnten. Hat man sich aber einmal diese Vorstellungsweise zu eigen gemacht, die doch eine Art Lösung voraussetzt, so könnte man die Hemmungswirkung für eine Besetzung der Serumimmunkörper mit freien Rezeptoren halten, die sich durch den Aufenthalt der Bakterien im Serum ablösen und dann als eine Art von Antiambozeptoren gelten könnten. Wenngleich ein schöner, im folgenden bestätigter Versuch von Pfeiffer und Friedberger sich direkt gegen diese Annahme richtet, (a. a. O. S. 7, Punkt 8), so beweist dieselbe doch, dafs eine Lösung von Bakterienteilen und noch dazu so wesentlichen, wie die supponierten Bakterienrezeptoren, auch ohne spezifische Bakteriolyse, wie bei Neisser und Shiga für möglich gehalten wird. Der Umstand, dafs man mit Bakterienextrakten z. B. Präzipitation erhalten (Kraus), damit immunisieren, d. h. Agglutinine und Bakteriolysine (Brieger, Neisser und Shiga) erzeugen kann, beweist das Gleiche.

In der Tat läfst sich mittels nicht bakteriolytisch erhaltener Bakterienextrakte die bakterizide Serumwirkung mehr weniger vollständig aufheben. Als Extraktionsflüssigkeit kann Serum oder physiologische Kochsalzlösung (auch Wasser, schwache Ammonkarbonat- oder Ammonsulfatlösung) verwendet werden. In den folgenden Versuchen wurde vorwiegend die als indifferent angesehene, neutrale 0,8proz. NaCl-Lösung verwendet, die ebenso wie Serum am besten wirkt, wenn sie $^1/_2$—1^h bis 60° auf Bakterien wirken kann.[1]) Die allermeisten Versuche wurden mit dem Choleravibrio, nur zur Ergänzung auch solche mit dem Typhusbazillus angestellt. In der Regel wurde nur mit Kaninchenserum, das einen Zusatz von Choleraimmunserum (von Herrn Prof. Pfeiffer in liebenswürdiger Weise überlassenes Serum einer immunisierten Ziege) erhielt, gearbeitet.

Tabelle I.

3 junge Choleraagarkulturen wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zu je $^1/_2$ Kultur in Eprouvetten verteilt. Durch Zentrifugieren mit vieler NaCl-Lösung werden die Vibrionen gewaschen und die Bodensätze wie folgt behandelt:

1) Vgl. Shiga, Berl. klin. Wochenschrift, 1904, Nr. 4.

a) In 1,5 ccm aktivem Kaninchenserum 1 Std. bei 37° belassen, zentrifugiert und dann die klare Flüssigkeit 1 Std. auf 60° erwärmt.
b) In 1,5 ccm aktivem Kaninchenserum 1 Std. bei 60° erwärmt, dann zentrifugiert.
c) Wie a mit inaktivem (1/2 Std. auf 60° erwärmtem) Kaninchenserum.
d) Wie b mit inaktivem Serum.
e) Wie a mit NaCl-Lösung.
f) Wie b mit NaCl-Lösung.

		Sofort	Nach 4 Stunden
1.	1,0 ccm Kaninch.-Serum + 0,0001 Immunserum	Über 30 000	0
2.	» + » + 0,01 a		48
3.	» + » + 0,1 a		434
4.	» + » + 0,01 b		152
5.	» + » + 0,1 b		368
6.	» + » + 0,01 c		22
7.	» + » + 0,1 c		1120
8.	» + » + 0,01 d		21
9.	» + » + 0,1 d		720
10.	» + » + 0,01 e		528
11.	» + » + 0,1 e		764
12.	» + » + 0,01 f		800
13.	» + » + 0,1 f		ca. 20 000
14.	» + » + 0,1 Kaninch.-Serum		0
15.	» + » + 0,1 Inakt. Kan.-Serum		6
16.	» + » + 0,1 NaCl-Lösung		112

Die Hemmung der Bakterizidie tritt deutlich hervor. Merkwürdigerweise bleiben die gleichen Extrakte auf frisches Schweineserum (ohne künstlichen Immunkörperzusatz) ohne Wirkung. Ebenso konnte Rinder-, Pferde- und Schafserum durch Bakterienextrakte, die in gleicher Weise mit den Seris selbst, mit Kaninchenserum und NaCl-Lösung hergestellt waren, nicht unwirksam gemacht werden, während Schweine- und Ziegenserum mit Choleravibrionen, in der angegebenen Weise behandelt, Kaninchenserum stark beeinflufsten. Über die Gründe dieser Erscheinung wurden weitere Untersuchungen nicht angestellt, doch läfst sich vermuten, dafs der natürlich hohe Immunkörpergehalt dieser Sera das Wesentliche ist.

Am interessantesten sind natürlich die mit Na Cl-Lösung hergestellten Extrakte, bei deren Herstellung von einer besonderen Bakteriolyse keine Rede sein kann. Sie sind ungleich wirksamer, wenn sie bei 60° als bei 37° gewonnen werden; namentlich letztere schwanken in ihrer Wirkung einigermafsen, was wohl mit der Menge und dem Alter der zur Extraktion verwendeten Kulturen zusammenhängt. Ganz junge, ca. 15stündige Kulturen sind die geeignetsten.

Tabelle II.

2 junge Choleraagarkulturen wurden in NaCl-Lösung aufgeschwemmt und in 4 Teile geteilt, dann zentrifugiert. Nach dem Abgiefsen der Zentrifugate wurden die Bodensätze in folgender Weise behandelt:

a) Ein Teil der gewaschenen Vibrionen + 1,0 ccm Kaninchenserum 1 Std. bei 37°.

b) Ein Teil der gewaschenen Vibrionen + 1,0 ccm Kaninchenserum 1 Std. bei 60°.

c) Wie a mit NaCl-Lösung.

d) Wie b mit NaCl-Lösung.

Dann völlig klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Serum Pfeiffer + 0,1 Na Cl-Lös.	ca. 5000	56
2. » » + » + 0,1 a		8 480
3 » » + » + 0,1 b		ca. 10 000
4. » » + » + 0,1 c		1 792
5. » » + » + 0,1 d		5 760
6. 1,0 ccm Rind.-Serum + 0,1 ccm NaCl-Lösung		0
7. » » + 0,1 a		0
8. » » + 0,1 b		0
9. » » + 0,1 c		0
10. » » + 0,1 d		0

Beim Zentrifugieren von Cholerabakterien, die bei 60° mit Na-Cl-Lösung hergestellt sind, bemerkt man ganz deutlich, dafs tatsächlich sehr starke Veränderungen mit der Bakterienmasse vor sich gegangen sein müssen. Dieselbe wird schleimig und bleibt zusammenhängend beim leichten Zentrifugieren oder wenn sie in grofser Menge frischer Na Cl-Lösung gegossen wird. Erst durch kräftiges Schütteln läfst sie sich zerteilen, durch kräftiges Zentrifugieren als fester Bodensatz abscheiden. Bei Typhusbazillen ist das weniger deutlich.

Tabelle III.

2. Agarkulturen junger Cholera werden in 1,0 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und 1 Std. bei 60° gehalten. Von der dadurch erhaltenen halbgeronnenen Masse wird je $^1/_6$ zugesetzt zu:

a) 1,0 ccm aktivem Kaninchenserum und $^1/_2$ Std. bei 37° gehalten.
b) » » » » » » » 60° »
c) 1,0 ccm NaCl-Lösung wie a.
d) » » » b.
e) 1,0 ccm inaktivem Kaninchenserum wie a.
f) » » » » b.

Dann alle Proben völlig klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,1 NaCl	ca. 8000	12
2. » » + » + 0,1 a		8 000
3. » » + » + 0,1 b		ca. 10 000
4. » » + » + 0,1 c		6 848
5. » » + » + 0,1 d		ca. 15 000
6. » » + » + 0,1 e		5 376
7. » » + » + 0,1 f		5 696

Tabelle IV.

Dieselben Flüssigkeiten wie in Tab. III werden in der Kälte aufbewahrt und am andern Tage zu Versuchen verwendet.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,1 NaCl	Über 20 000	672
2. » » + » + 0,1 a		Über 20 000
3. » » + » + 0,1 b		
4. » » + » + 0,1 c		
5. » » + » + 0,1 d		
6. » » + » + 0,1 e		
7. » » + » + 0,1 f		
8. » » + 0,0005 Pfeiffersches Serum + 0,1 NaCl		544
9. » » + » + 0,1 a		2016
10. » » + » + 0,1 b		1568
11. » » + » + 0,1 c		5284
12. » » + » + 0,1 d		3808
13. » » + » + 0,1 e		2944
14. » » + » + 0,1 f		3104

Auch bei der Versuchsanordnung, die in Tabelle III und IV eingehalten wurde, tritt der Einflufs der Bakterienextrakte überall deutlich hervor. Aus Tab. IV geht aber noch weiter hervor, dafs die hemmende Wirkung mit steigendem Immunkörpergehalte des Serums geringer wird.

Tabelle V.

a) 1 Choleraagarkultur + 1 ccm Kaninchenserum.
b) 1 » + 1 ccm NaCl-Lösung.
Beide Proben 1 Std. bei 60° extrahiert und dann klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,1 NaCl	12—15 000	ca. 20 000
2. » » + 0,1 a		∞
3. » » + 0,1 b		∞
4. » » + 0,0001 Pfeifferches Serum + 0,1 NaCl		3 680
5. » » + » + 0,1 a		∞
6. » » + » + 0,1 b		∞
7. » » + 0,001 » + 0,1 NaCl		2 688
8. » » + » + 0,1 a		ca. 10 000
9. » » + » + 0,1 b		5 184
10. » » + 0,005 » + 0,1 NaCl		8
11. » » + » + 0,1 a		352
12. » » + » + 0,1 b		720

Aus diesem Befunde läfst sich mit Sicherheit eine Einwirkung des hemmenden Extraktes erschliefsen, die sich zum mindesten vorwiegend, wenn nicht gänzlich gegen den Immunkörper richtet. Diese Feststellung stimmt ganz mit der Ermittelung von Pfeiffer und Friedberger in Tierversuchen überein.

Bezüglich eines anderen Punktes war die Übereinstimmung in einigen Fällen ebenfalls zu erzielen. Pfeiffer und Friedberger geben an, dafs es ihnen gelungen sei, mit Kaninchenserum, nicht aber mit Meerschweinchenserum, die mit Vibrionen behandelt waren, bakteriolytischen Antagonismus im Meerschweinchenversuch zu erzielen. Auf den Reagenzglasversuch übertragen, würde das heifsen, dafs Meerschweinchenserum + Immunkörper

wohl durch ein mit Vibrionen behandeltes Kaninchenserum, nicht aber durch ein ebenso behandeltes Meerschweinchenserum gehemmt würde. Entsprechend auch beim Kaninchenserum. In einem Falle ergab der bakterizide Glasversuch wirklich dieses Resultat, ebenso auch, dafs mit Na-Cl-Lösung bei 37° hergestellte Extrakte unwirksam waren. Bei 60° extrahierte Vibrionen machten jedes Serum und auch Kochsalzlösung hemmend.

Tabelle VI.

a) $^1/_7$ Agar-Cholerakultur + 1,0 ccm Meerschweinchenserum 1 Std. bei 37°.
b) » » 1 » » 60°.
c) Wie a mit Kaninchenserum.
d) Wie b mit Kaninchenserum.
e) Wie a mit NaCl-Lösung.
f) Wie b mit NaCl-Lösung.
Dann klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Meerschw.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum	Über 50 000	0
2. » » + » + 0,1 a		4
3. » » + » + 0,1 b		2 432
4. » » + » + 0,1 c		ca. 10 000
5. » » + » + 0,1 d		ca. 15 000
6. » » + » + 0,1 e		5
7. » » + » + 0,1 f		192
8. 1,0 ccm Kaninchenserum + 0,0001 Pfeiffersches Serum		0
9. » » + » + 0,1 a		2 272
10. » » + » + 0,1 b		ca. 10 000
11. » » + » + 0,1 c		88
12. » » + » + 0,1 d		ca. 10 000
13. » » + » + 0,1 e		0
14. » » + » + 0,1 f		1 248

Es lag wohl an der Verwendung gröfserer Choleramengen, wenn sonst auch durch Kochsalzlösung und jedes Serum bei 37° wirksame Extrakte erhalten wurden.

Bei einigem Probieren würde man wohl noch wirksamere Extraktionsmethoden finden können, z. B. mit Wasser oder stark verdünnten Salzlösungen.

Tabelle VII.

Eine gröfsere Menge von Choleravibrionen mit NaCl-Lösung aufgeschwemmt und dazu Ammoniumkarbonatlösung bis zur deutlich allkalischen Reaktion zugesetzt und 1 Std. bei 60° extrahiert, dann ca. 1 $^1/_2$ Tage lang zentrifugiert. Dadurch wurde eine obere, leicht opaleszierende Schicht von dem bazillenhaltigen Bodensatz tadellos getrennt. Diese klare Flüssigkeit diente zum folgenden Versuch:

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Meerschw.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum	Über 50 000	1984
2. » » + » + 0,01 Extr.		ca. 15 000
3. » » + » + 0,05 »		∞
4. » » + » + 0,1 »		∞
5. » » + » + 0,25 »		∞
6. » » + » + 0,25 NaCl		1 856
7. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,1 »		36
8. » » + » + 0,01 Extr.		10 880
9. » » + » + 0,05 »		ca. 30 000
10. » » + » + 0,1 »		∞

Die Wirkung der hemmenden Extrakte richtet sich gegen den Immunkörper des Choleraimmunserums, es läfst sich aber durch Zusatz von Immunkörper zur Flüssigkeit, mit welcher die Vibrionen ausgezogen werden, eine stärkere, hemmende Flüssigkeit nicht erzielen. Es bleibt vielmehr dann der Immunkörper so vollständig erhalten, dafs Extraktionsflüssigkeiten mit höherem Immunkörpergehalt weniger stark, als solche mit geringerem oder gar keinem, hemmen. Es ist dabei gleichgültig, ob man ein Immunserum oder ein Serum mit natürlichem, hohem Immunkörpergehalt, z. B. Rinderserum, verwendet.

Tabelle VIII.

a)	$^1/_5$ Agar-Cholerakultur	+ 1,0 ccm NaCl-Lösung.		
b)	»	+ »	+ 0,00005 Pfeiff. Serum.	
c)	»	+ »	+ 0,0001 »	
d)	»	+ »	+ 0,0005 »	
e)	»	+ »	+ 0,001 »	
f)	$^1/_{10}$ Agar-Cholerakultur	+ 0,01 Rinderserum	+ 0,99 NaCl	
g)	»	+ 0,05 »	+ 0,95 »	
h)	»	+ 0,1 »	+ 0,9 »	
i)	»	+ 0,25 »	+ 0,75 »	
j)	»	+ 0,9 »	+ 0,1	

Alle Proben 1 Std. bei 37° belassen und dann völlig klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,15 Na Cl	ca. 20 000	48
2. » » + » + 0,15 a		10 240
3. » » + » + 0,15 b		ca. 15 000
4. » » + » + 0,15 c		10 560
5. » » + » + 0,15 d		ca. 15 000
6. » » + » + 0,15 e		7 680
7. » » + » + 0,15 f		ca. 15 000
8. » » + » + 0,15 g		4 960
9. » » + » + 0,15 h		4 160
10. » » + » + 0,15 i		2 240
11. » » + » + 0,15 j		41

Bereits aus diesem Versuche ergibt sich mit Wahrscheinlichkeit, dafs ein Etwas, das nur den Vibrionen selbst entstammen kann, die Wirkung des Immunkörpers hemmt, ohne direkt in ihn einzugreifen. Immerhin wäre bei diesem Versuch noch an eine Erklärung durch freie Rezeptoren, die am Immunkörper angreifen und so als eine Art Antiambozeptor wirken würden, zu denken. Wirkliche Antiambozeptoren und Antikomplemente sind schon nach der Gewinnungsweise der hemmenden Flüssigkeiten ausgeschlossen. Dafs für solche freie Rezeptoren quantitative Bindungsverhältnisse an die Immunkörper gelten und das Ergebnis von Tab. VI erklären könnten, ist zuzugeben.

Es blieb also zu entscheiden, ob wirklich die hemmende, durch Extraktion bei 60° gelöste Vibrionensubstanz den Immunkörper etwa durch Bindung direkt beeinflufst. Wäre dies der Fall, so müfste ein Immunserum, das mit hemmender Flüssigkeit versetzt ist, unfähig sein, sich mit dem darin enthaltenen Immunkörper an zugefügte Vibrionen anzulegen; diese müfsten daher nach Zusatz von normalem Kaninchenserum, als Komplement, nicht stärker als ohne vorherige Immunserumbehandlung beeinflufst werden. Dies würde um so eher der Fall sein, als man bei einem Erklärungsversuche durch freie Rezeptoren zu der zweiten, allerdings ganz willkürlichen Annahme gezwungen wäre,

für diese eine gröfsere, mindestens aber die gleiche Affinität zu den Immunkörpern, als sie den normalen Bakterien zukommt, zu fordern.

Tabelle IX.

Der hemmende Extrakt wurde aus 2 jungen Agarkulturen von Cholera in 2,0 ccm Kochsalzlösung durch 1 Std. Erwärmung auf 60° hergestellt und klar zentrifugiert. Zur Einsaat wurden Vibrionen benutzt, die in folgender Weise behandelt wurden:

Cholera a) $^1/_4$ Agarkultur + 0,001 ccm Serum Pfeiffer in 1,0 ccm NaCl-Lösung,
» b) $^1/_4$ » + 0,01 » » » » »

Beide wurden 1 Std. bei 37° belassen und dann zentrifugiert; die Vibrionensätze wurden mit NaCl-Lösung gewaschen und wieder aufgeschwemmt.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,25 NaCl-Lösung	Cholera a	ca. 50 000	ca. 10 000
2. » » + 0,15 » + 0,1 Extr.			über 20 000
3. » » + 0,25 Extrakt			» 30 000
4. Wie 1	Cholera b	ca. 30 000	68
5. » 2			» 20 000
6. » 3			» 50 000

Während der Serumeinwirkung war Cholera b vollständig, Cholera a zum Teil agglutiniert worden.

Tabelle X.

Der hemmende Extrakt wird durch 1 stündige Erwärmung auf 60° von 2 Choleraagarkulturen in 2,0 ccm NaCl-Lösung gewonnen und klar zentrifugiert. Die zu den Einsaaten bestimmten Vibrionen werden durch Zusatz einer Verdünnung von Serum »Pfeiffer« 0,1 ccm : 0,9 ccm in folgender Weise vorbehandelt:

Cholera a) 0,01 ccm Serumverdünnung + 0,49 ccm NaCl-Lösung,
» b) 0,05 » » + 0,45 » »
» c) 0,1 » » + 0,4 » »
» d) 0,05 » » + 0,2 » » + 0,25 ccm Extr.

Nach 10 Minuten langem Stehen dieser Proben wird jeder derselben $^1/_{10}$ Choleraagarkultur in 0,5 ccm NaCl-Lösung zugesetzt, 1 Std. bei 37° gehalten, dann zentrifugiert. Der gewaschene und wieder aufgeschwemmte Vibrionensatz dient zur Einsaat.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan. Serum + 0,25 NaCl-Lösung	Cholera a	Über 50 000	1 660
2. » » + 0,15 » + 0,1 Extr.			ca. 30 000
3. » » + 0,25 Extrakt			∞
4. Wie 1	Cholera b		8
5. » 2			über 50 000
6. » 3			∞
7. » 1	Cholera c		0
8. » 2			2 080
9. » 3			über 50 000
10. » 1	Cholera d		136
11. » 2			∞
12. » 3			∞

Tabelle XI.

Extrakt wie in Tab. X hergestellt. Verdünnung von Serum »Pfeiffer« 0,1 : 0,9 ccm NaCl-Lösung:

Cholera a) 0,05 ccm Serumverdünnung + 0,7 ccm NaCl-Lösung,
» b) 0,25 » » + 0,5 » »
» c) 0,05 » » + 0,2 » » + 0,5 ccm Extr.
» d) 0,25 » » + 0,5 ccm Extrakt.

Nach $^1/_4$ stünd. Stehenlassen wird überall 0,25 ccm NaCl-Lösung, in der je $^1/_{10}$ Choleraagarkultur aufgeschwemmt ist, zugesetzt. Nach 1 stünd. Aufenthalt bei 37° wird abzentrifugiert und der gewaschene Vibrionensatz zur Einsaat verwendet.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,15 NaCl-Lösung	Cholera a	12 bis 15 000	0
2. » » + 0,1 » + 0,05 Extr.			496
3. » » + 0,15 Extrakt			∞
4. Wie 1	Cholera b	ca. 20 000	0
5. » 2			184
6. » 3			2 656
7. » 1	Cholera c		0
8. » 2			ca. 30 000
9. » 3			∞
10. » 1	Cholera d		0
11. » 2			10
12 » 3			6 336

Tabelle XII.

Extrakt wie in Tab. X mit 3 Agarkulturen in 3 ccm NaCl-Lösung hergestellt. Verdünnung von Serum »Pfeiffer« 0,1 : 0,9 NaCl-Lösung:

Cholera a) 0,05 ccm Serumverdünnung + 1,0 ccm NaCl Lösung,
» b) 0,25 » » + » »
» c) 0,05 » » + 1,0 ccm Extrakt,
» d) 0,25 » » + » »

Nach $^1/_4$ stünd. Stehenlassen wird überall $^1/_{10}$ Choleraagarkultur in 0,1 ccm NaCl-Lösung zugesetzt, dann wie früher vorgegangen.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kaninchenserum + 0,09 NaCl-Lösung	Cholera a	ca. 30 000	126
2. » » + 0,09 Extrakt			∞
3. Wie 1	Cholera b		0
4. » 2			1 504
5. » 1	Cholera c		704
6. » 2			∞
7. » 1	Cholera d		104
8. » 2			ca. 20 000

Die in den letzten vier Tabellen angeführten Versuche widerlegen zunächst jeden Erklärungsversuch mit Hilfe von freien Rezeptoren. Würden solche durch Anlagerung an den Immunkörper des Serums die weitere Wirkung desselben auf Choleravibrionen verhindern, so wäre nicht einzusehen, warum sie sich nicht sofort mit demselben verbinden, wenn noch gar keine Vibrionen in der Mischung von Immunserum und Vibrionenextrakt vorhanden sind. Die später in eine solche Mischung eingebrachten Vibrionen müfsten dann nach Zusatz von Komplement unbehelligt wachsen können oder nur jene Einwirkung erfahren, welche dem natürlichen Immunkörpergehalt des als Komplement dienenden Kaninchenserums entspricht. Bei den hier zur Anwendung gelangten hohen Einsaaten kann der letztere übrigens ganz vernachlässigt werden; denn kein normales Kaninchenserum vermag dabei noch zu wirken (vgl. dazu überdies Tab. X, wo in der ersten Reihe das Immunserum in wenigster Menge angewendet worden war).

Die Versuche zeigen aber deutlich, daſs selbst die gröſsten Mengen hemmender Substanz die Sensibilisierung (Bordet) oder Präparierung (Gruber) durch das Immunserum nicht wesentlich hindern können.

Denn einen dieser beiden Ausdrücke wird man wählen müssen, da die Versuche auch geeignet sind, gegen die Annahme einer Bindung (nach Art der chemischen Bindung) des Immunkörpers an die Vibrionen die schwersten Bedenken hervorzurufen. Während 1stündigen Aufenthaltes bei 37°, den man wegen des Eigenwachstums der Bakterien ja kaum länger ausdehnen darf, muſs die Bindung des Immunkörpers an die Vibrionen erfolgt sein und solche Bakterien müſsten im gröſsten Maſsstabe nach Komplementzusatz abgetötet werden, wie dies ja auch tatsächlich der Fall ist. Wenn der gleichzeitige Zusatz des Vibrionenextraktes die Abtötung verhindert, so wäre eine Erklärung nach der Ehrlichschen Vorstellungsweise nur noch durch eine Art antikomplementärer Wirkung oder dadurch möglich, daſs nicht die zytophile, sondern die komplementophile Gruppe des Ambozeptors besetzt wird. Ersteres wird durch die schon angeführten Versuche widerlegt, daſs die gleiche Menge Komplement trotz Anwesenheit wirksamer Hemmungsextrakte sehr wohl zu wirken vermag, wenn der Immunkörpergehalt erhöht wird; das Komplement an sich wird also gar nicht beeinfluſst. Bei der zweiten Annahme, die mit Rücksicht auf die der komplementophilen Gruppe zugeschriebenen funktionellen Beschaffenheit nicht recht wahrscheinlich klingt, entsteht wieder die Frage, warum denn nicht ihre Besetzung auch bei bloſser Anwesenheit von Immunkörpern und hemmenden Extrakten erfolgt.

Es bliebe demgegenüber nur noch die Annahme offen, daſs der Extrakt nur dann auf den Immunkörper wirkt, wenn nicht dieser allein, sondern in Verbindung mit dem Komplement als fertiges Bakteriolysin vorhanden ist. Dann müſste er einzig und allein durch Besetzung der zytophilen Gruppe, d. h. wieder als freier Rezeptor wirken, da ja die komplementophile bereits von Komplement besetzt wäre oder schnellstens besetzt würde. Es wäre also wieder ein freier Rezeptor, an den man denken

müfste. Nun zeigten aber Tab. IX—XII aufs deutlichste, dafs isolierte und an die Vibrionen gebundene Immunkörper mit dem Komplement ein fertiges und wirksames Bakteriolysin liefern, das erst durch neuerlichen Zusatz des Extraktes gehemmt wird. Es müfste also der freie Rezeptor eine so grofse Affinität zu dem fertigen Bakteriolysin besitzen, dafs er dasselbe in kürzester Zeit, noch ehe es wirken kann, von den Bakterien losreifsen und an sich fesseln würde. Diese Annahme würde wohl kaum ernstlich in Diskussion gestellt werden können.

Es ist somit nicht möglich, diese einfachen Versuche durch die Ehrlichsche Theorie zu erklären. Hält man an der Existenz bestimmter, eigener, bakterientötender Stoffe im Serum fest, so bleibt nur die Annahme Bordets, der auch Gruber im wesentlichen zustimmte, übrig, dafs eine Sensibilisierung oder Präparierung nicht im Sinne einer chemischen Bindung, sondern eines zurzeit noch nicht näher zu definierenden physikalischen Vorganges erfolgt, wodurch dann die Alexinwirkung erleichtert wird. Diese Präparierung ist dann eine Art von Adsorption, die nicht notwendigerweise genau quantitativ erfolgen müfste und daher im Überschusse eintreten kann. Damit wäre dann leicht erklärt, dafs Vibrionen, die der Wirkung starker Serumkonzentration ausgesetzt waren, nachträglich nach Zusatz von Komplement trotz Anwesenheit hemmenden Extraktes noch bis zu einem gewissen Grade abgetötet werden.

Es fragt sich nur, ob es nicht noch besser wäre, die Annahme besonderer bakteriolytischer Stoffe ganz fallen zu lassen und nur einen besonderen physikalisch-chemischen Zustand zu berücksichtigen, vermöge dessen Bakteriolyse und ihre Hemmung erklärt werden könnten.

In dieser Richtung sollen weitere Versuche angestellt werden.

Soweit Versuche mit Typhusbazillen gemacht wurden, stimmten sie in ihren Ergebnissen mit denen bei Cholera überein, nur dafs die bakterizide Wirkung der Sera schwächer war, wie dies ja für Typhus gewöhnlich ist.

Über Agglutinationsbehinderung der Typhusbazillen.

Von

Dr. **Edmund Weil,**
Assistenten des Institutes.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

Pfeiffer und Friedberger[1]) konnten normales Kaninchenserum durch Behandlung von Typhusbazillen und Choleravibrionen in einen Zustand versetzen, dafs dasselbe im Tierkörper die bakterizide Wirkung eines Immunserums aufhebt. Die Autoren schliefsen die Wirkung von Antikomplementen und Antiambozeptoren aus und nehmen an, dafs dadurch, dafs die Typhusbazillen und Choleravibrionen im normalen Serum Stoffe binden, — dasselbe eine Substanz von der eben genannten Funktion in Wirksamkeit treten läfst, welche bakteriolytischer Antagonist benannt wird. Dafs diese Substanz nicht aus den Bakterienleibern stammen könne, beweisen sie damit, dafs auch inaktiviertes Serum, bei welchem es nicht zur Bakteriolyse kommen kann und demnach Leibessubstanzen aus den Bakterien nicht frei werden könnten, dieselbe Wirkung entfaltet, und dafs Kochsalzlösung, mit Bakterien behandelt, stets unwirksam ist. Bail und Kikuchi[2]) konnten durch ihre Versuche den Nachweis erbringen, dafs diese Substanz aus den Bakterien stammen müsse,

1) Deutsche med. Wochenschr., 1905, Nr. 1.

2) Archiv f. Hygiene, s. dieses Heft.

da sie stets in stärkster Wirksamkeit in Kochsalzlösung vorhanden ist, welche bei 60° auf die Bakterien eingewirkt hat, jedoch meist nicht bei 37°, welche Temperatur Pfeiffer und Friedberger bei ihren Kontrollversuchen mit Kochsalzlösung gewählt hatten.

Die grofse Ähnlichkeit betreffs des Mechanismus aller Immunitätsreaktionen, speziell der Bakteriolyse und Agglutination, boten die Veranlassung, zu untersuchen, ob ähnliche Verhältnisse nicht auch für die Agglutination Gültigkeit haben. Die nachfolgenden Untersuchungen nehmen von folgendem Versuche ihren Ausgang: Man schwemmt eine üppig gewachsene Agarkultur in 1 ccm Kochsalzlösung ab, setzt sie 1 Stunde der Temperatur von 60° aus und zentrifugiert hierauf die Bakterien bis zur vollständigen Klärung der Flüssigkeit ab. Verreibt man in diese Flüssigkeit Typhusbazillen, so weisen dieselben nach Zugabe von agglutinierendem Serum eine ungemein starke Hemmung der Agglutination auf.

Um die Bedingungen, unter welchen ein möglichst wirksamer Extrakt zu erlangen ist, kennen zu lernen, wurde folgender Versuch angestellt:

a) Die Bakterienmasse einer Agarkultur in 1 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten.
b) Die 10fache Verdünnung dieser Bakterienmenge, sonst wie a.
c) Wie a, nur 4 Stunden bei 37° gehalten.
d) Wie b, » » » » » »
e) Wie a, » 1 Stund » 60° »
f) Wie b, » » » » » »
g) Wie a, » » » » 100° »
h) Wie b, » » » » » »

Alle Röhrchen wurden hierauf durch Zentrifugieren von den Bakterien befreit und zu jedem vier Tropfen einer dichten Agaraufschwemmung von Typhusbazillen gegeben, so dafs eine sehr deutliche Trübung zustande kam. Nach ¼ stündigem Verweilen bei 37° wurde ein Tropfen agglutinierendes Serum hinzugesetzt, so dafs die entsprechende Verdünnung zustande kam. Bakterien und Serum wurden deshalb mit wenig Flüssigkeit

hinzugefügt, damit eine wesentliche Verdünnung des Extraktes nicht zustande kam. Die beifolgende Tabelle gibt Aufschlufs über die Wirksamkeit der verschiedenen Bakterienextrakte.

Tabelle I.

Serumverdünnung 1 : 700.

Zusatz von Extrakt	1/4 Stunde	1/2 Stunde	1 Stunde	1 1/2 Stunden	2 Stunden
a)	++	+++	+++	+++	+++
b)	++	+++	+++	+++	+++
c)	++	+++	+++	+++	+++
d)	++	+++	+++	+++	+++
e)	—	—	—	—	—
f)	—	+	+	++	++
g)	—	—	—	—	—
h)	—	+	+	++	++
Kontrolle	++	+++	+++	+++	+++

Um also eine hemmende Substanz von starker Wirkung zu erreichen, mufs man grofse Bakterienmengen verwenden; denn wie aus der vorangehenden Tabelle ersichtlich ist, tritt zwar auch in der zehnfachen Verdünnung eine erhebliche Hemmung der Agglutination ein, ein vollständiges Versagen jedoch nur bei Extrakten, die aus einer grofsen Bakterienmasse gewonnen sind. Die geeignetste Temperatur zur Gewinnung des Extraktes liegt zwischen 60° und 100°. Die Wirkung versagt bei 37° und niederer Temperatur.

Wie stark die Hemmung in den verschiedenen Serumkonzentrationen ist, zeigt Tabelle II (auf S. 294). Der hier zur Verwendung gelangte Bakterienextrakt wurde auf die Weise gewonnen, dafs die gesamte Bakterienmasse einer Kolleschen Schale in 8 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und eine Stunde zwischen 60° und 65° gehalten wurde. Bakterien und agglutinierendes Serum wurden in der oben beschriebenen Weise hinzugefügt.

Tabelle II.

Typhusbazillen, in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Serumverdünnung	1/4 Stunde	1/2 Stunde	1 Stunde	1 1/2 Stunden	2 Stunden
1 : 100	++	+++	+++	+++	+++
1 : 700	++	+++	+++	+++	+++
1 : 1400	+	++	+++	+++	+++
1 : 2800	—	+	+	+	++
1 : 7000	—	—	—	+	+

Typhusbazillen, in 1 ccm Bakterienextrakt aufgeschwemmt.

Serumverdünnung	1/4 Stunde	1/2 Stunde	1 Stunde	1 1/2 Stunden	2 Stunden
1 : 100	—	—	—	—	+
1 : 700	—	—	—	—	—
1 : 1400	—	—	—	—	—
1 : 2800	—	—	—	—	—
1 : 7000	—	—	—	—	—

Die hier erzielte Hemmung ist eine so starke, daſs nur in der Konzentration 1 : 100 nach 2 Stunden bei 37° der erste Beginn der Agglutination zu beobachten ist. In allen übrigen Konzentrationen ist die Reaktion eine negative. Bei Stehenbleiben über Nacht tritt in allen Röhrchen etwas Bodensatz ein, was wohl auf mechanische Senkung der Bakterien zu beziehen ist.

Um über den Mechanismus der hemmenden Substanz Aufschluſs zu erlangen, muſs vor allem daran festgehalten werden, daſs dieselbe aus den Bakterien stammt. Nach den jetzigen Anschauungen kennen wir in den Typhusbazillen zwei Substanzen, welche durch Beeinflussung durch das Agglutinin die Agglutination auslösen, und zwar die bindende Substanz oder die Bakterienrezeptoren, welche die Verankerung des Agglutinins besorgen, und die fällbare oder agglutinierbare Substanz, an deren Intaktheit die sichtbare Agglutination geknüpft ist. Eine einfache Überlegung bringt den Gedanken nahe, daſs die von der Kochsalzlösung extrahierte Substanz die Bakterienrzeptoren sein könnten; denn man kann sich sehr leicht vorstellen, daſs dieselben, einer Bakterienaufschwemmung zugesetzt, das Agglutinin

binden, so dafs dasselbe zu den fixen Bakterienrezeptoren nicht gelangen kann. Eine Agglutination müfste demnach ausbleiben. Man mufs dabei allerdings annehmen, dafs die freien Rezeptoren eine gröfsere Bindungskraft für das Agglutinin besitzen, als die fixen Bakterienrezeptoren, eine Annahme, die man zur Erklärung verschiedener Immunitätsreaktionen zu machen gezwungen ist. Es ist nicht zu bezweifeln, dafs die hemmenden Extrakte, mit denen gearbeitet wurde, denen von Neifser und Shiga[1]), trotz der in einigen unwesentlichen Punkten abweichenden Darstellungsart, entsprechen. Die hemmende Wirkung, die auch die genannten Autoren feststellen, die in unseren Extrakten wegen der ungleich gröfseren Bakterienmengen, die verwendet werden, in verstärktem Mafse .vorhanden war, führen dieselben direkt auf die von ihnen so benannten »freien Rezeptoren« zurück.

Entspricht also die hemmende Substanz im Bakterienextrakte den freien Rezeptoren, so mufsten dieselben folgende Bedingungen erfüllen: 1. Durften sie die Bakterien nicht beeinflussen, 2. mufsten sie das Agglutinin binden. Beides mufste sich experimentell nachweisen lassen.

Um den ersten Punkt zu erweisen, mufste gezeigt werden, dafs Typhusbazillen, die mit dem Bakterienextrakte in Kontakt gewesen sind, in ihrer Agglutinabilität vollständig unverändert sind, was auch tatsächlich der Fall ist; denn die in der hemmenden Substanz suspendierten, abzentrifugierten und gewaschenen Bakterien zeigen nach Zusatz von agglutinierendem Serum dieselbe Agglutinierbarkeit wie vorher, ein Beweis dafür, dafs die hemmende Substanz von den Bakterien nicht gebunden wird, was ja schon vorauszusehen war.

Verschiedene Versuche standen zu Gebote, um den zweiten Punkt zu beweisen. Aus Tabelle II ist zu entnehmen, dafs 1 ccm Bakterienextrakt die Serumkonzentration 1 : 100 sehr stark hemmt, wobei die Bakterien in der Kochsalzaufschwemmung in der 70fach schwächeren Konzentration (1:700) agglutiniert werden. Wirkt nun die hemmende Substanz im Bakterien-

1) Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 4.

extrakt als freier Rezeptor, so wird er als solcher das Agglutinin binden und die Agglutination nicht ermöglichen. Da man jedoch die hemmende Substanz im Bakterienextrakt vom agglutinierenden Serum nicht trennen kann, um so die Einwirkung auf das Agglutinin zu beweisen, so mufs man mit solchen Verdünnungen arbeiten, bei welchen das agglutinierende Serum noch Agglutination hervorbringt, die hemmende Substanz jedoch die Agglutination zu verhindern nicht mehr imstande ist. Zum genaueren Verständnis des eben Gesagten sei ein solcher Versuch geschildert.

Man setzt zu 1 ccm Bakterienextrakt 3 Tropfen der Serumverdünnung 1 : 3, woraus dann die Verdünnung 1 : 30 resultiert. Nach ½ stündigem Verweilen im Brutschrank setzt man davon 1 Tropfen zu 1 ccm Bakterienaufschwemmung in Kochsalzlösung. Die Bakterien sind hier der Serumverdünnung 1 : 900 ausgesetzt (Röhrchen I.) Ferner setzt man zu 1 ccm Kochsalzlösung ebenfalls 3 Tropfen der Serumverdünnung 1 : 3 und gibt 1 Tropfen davon zu 1 ccm Bakterienemulsion (Röhrchen II). Zu Röhrchen III, welches Röhrchen II vollständig entspricht, setzt man vor der Serumzugabe 1 Tropfen Bakterienextrakt, welche Menge auch in Röhrchen I enthalten ist; blofs hat der Bakterienextrakt hier nicht Gelegenheit gehabt, in so konzentriertem Zustande auf das Serum (Kontrolle) einzuwirken wie bei Röhrchen I. Während also in Röhrchen II prompt Agglutination eintritt, in Röhrchen III nur geringe Hemmung infolge des Tropfens Bakterienextraktes zu beobachten ist, bleibt in Röhrchen I die Agglutination während zweistündiger Beobachtung aus. Die Deutung dieses scheinbar komplizierten Versuches ist einfach die, dafs die hemmende Substanz im Bakterienextrakt das Serum unwirksam macht, ebenso wie etwa freie Rezeptoren auf das Agglutinin wirken würden, ob durch Bindung, ist allerdings nach diesem Versuche nicht zu sagen. Doch scheint auch diese Annahme möglich, denn diese Bakterien zeigen, abzentrifugiert, gewaschen und in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, keine Reagglutination. Darnach wäre die Vorstellung gerechtfertigt, dafs die freien Rezeptoren durch Bindung des Agglutinins verhindern, dafs dasselbe an die

fixen Bakterienrezeptoren gelangt. Die Bakterien also, vom Agglutinin nicht beeinflufst, weisen dann, wie es hier der Fall ist, keine Reagglutination auf. Wir kommen auf diesen Versuch, der auch eine andere Deutung zuläfst, noch zurück. Schliefslich spricht aus der Hitzebeständigkeit der hemmenden Substanz, die ja bei 100° extrahiert wurde, für die Möglichkeit eines freien Rezeptors, da ja die Temperatur von 100° die Bindungsfähigkeit der Typhusbazillen, also ihre fixen Rezeptoren, nicht beeinträchtigt. Wir haben nun alle jene Momente in Betracht gezogen, welche dafür sprechen, dafs die hemmende Substanz im Bakterienextrakte den von Neifser und Shiga beschriebenen freien Rezeptoren entspricht.

In einer früheren Publikation[1]) wurde festgestellt, dafs die günstigste Temperatur für die Agglutinationsreaktion zwischen 50° und 55° liegt, indem bei dieser Temperatur die Agglutination viel rascher und vollständiger verläuft als bei 37°. Setzt man nun die Typhusbazillen im Bakterienextrakt nach Zugabe agglutinierenden Serums der Temperatur von 55° aus, so tritt zwar ebenfalls Hemmung ein, welche jedoch nicht so intensiv und ausgesprochen ist wie bei 37°. Mögen wir uns nun die schnellere Agglutination bei 55° wie immer vorstellen, sei es durch raschere oder durch festere Bindung des Agglutinins an die Bakterien, so müfsten die freien Rezeptoren im Bakterienextrakt durch ihre stärkere Bindungskraft als die fixen Rezeptoren bei 55° um so intensiver wirken, und die Agglutinationsbehinderung müfste bei dieser Temperatur eher stärker sein. Dies ist jedoch, wie eben erwähnt, nicht der Fall, ein Umstand, der sehr schwer mit der Annahme, dafs als Ursache der Hemmung freie Rezeptoren anzusehen sind, vereinbar ist. Hier sei auch darauf hingewiesen, dafs Agglutinationshemmung in starken Serumkonzentrationen, die der Wirkung von Agglutinoiden zugeschrieben wird, bei 55° ebenfalls viel weniger zutage tritt, was aus ebendemselben Grunde gegen die Wirkung von Agglutinoiden spricht, welche nach der bestehenden Anschauung eine stärkere Affinität (Proagglutinoide)

1) Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 36, Nr. 5; Bd. 37, Nr. 1.

zu den Bakterien besitzen als das Agglutinin. Diese Affinität müfste aber bei 55° noch gesteigert sein. Doch lassen sich vielleicht gegen diese Deutungen Einwände erheben, jedenfalls geben sie Anlafs zur weiteren Untersuchung, ob die Hemmung durch den Bakterienextrakt tatsächlich auf die Wirkung freier Rezeptoren zurückzuführen sei.

Wir wissen, dafs agglutinierte Bakterien das Agglutinin so fest binden, dafs es nicht gelingt, dasselbe durch Waschen zu entfernen, so dafs also agglutinierte Bakterien, abzentrifugiert, zerschüttelt und in einer indifferenten Flüssigkeit aufgeschwemmt, immer wieder reagglutiniert werden. Wenn also die Agglutinationsbehinderung durch den Bakterienextrakt auf die freien Rezeptoren zu beziehen ist, so mufste die Wirkung desselben bei Bakterien, die das Agglutinin bereits gebunden haben, vollständig versagen, da die haptophore Gruppe des Agglutinins, der Angriffspunkt der freien Rezeptoren, schon durch die normalen Bakterien besetzt ist. Derartige Versuche wurden so ausgeführt, dafs Typhusbazillen durch die Serumkonzentration 1:700 zur Agglutination gebracht wurden. Nachdem dieselbe vollendet war, wurde zentrifugiert, gewaschen und die Bakterien einerseits in Kochsalzlösung, anderseits im Bakterienextrakt aufgeschwemmt. Während in der Kochsalzlösung prompt Reagglutination eintrat, zeigten die Bakterien, im Bakterienextrakt aufgeschwemmt, dieselbe Hemmung, als ob sie mit Agglutinin gar nicht beladen wären, genau so, als ob der Bakterienextrakt auf das agglutinierende Serum eingewirkt hätte, das an Bakterien nicht gebunden ist. Solche Versuche fielen stets eindeutig aus und sprechen mit grofser Wahrscheinlichkeit gegen die Annahme der freien Rezeptoren als Ursache der Hemmung. Man müfste sich denn vorstellen, dafs dieselben durch ihre starke Affinität zum Agglutinin imstande wären, das schon an die Bakterien gebundene Agglutinin wieder loszureifsen. Diese Bakterien müfsten dann, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, nicht mehr reagglutiniert werden. Dies ist nun wirklich der Fall. Da jedoch die Annahme, dafs ein Überspringen von der fixen auf die freien Rezeptoren stattfindet, gezwungen und unnatürlich erscheint, so trat

der Gedanke nahe, ob die hemmende Substanz im Bakterienextrakte nicht anders als ein freier Rezeptor, wogegen schon so manches sprach, wirken müfste. Es wäre möglich, dafs die Agglutinationsbehinderung darin bestehe, dafs die hemmende Substanz direkt das Serum unwirksam mache, nicht durch Bindung, wie ein freier Rezeptor, sondern ebenso wie etwa die Temperatur von 75°, oder chemische Agentien, die thermolabile Gruppe des Agglutinins zerstören, das Agglutinin inaktivieren. In dem vorliegenden Falle wäre nach dieser Annahme an der Bindung des Agglutinins bei den agglutinierten Bakterien durch die hemmende Substanz nichts geändert; die hemmende Substanz des Bakterienextraktes hätte das an die Bakterien gebundene Agglutinin an den Bakterien inaktiviert, seine fällende Gruppe zerstört, so dafs diese Bakterien nicht mehr mit Agglutinin, sondern mit Agglutinoiden besetzt wären. Ist das richtig, so mufsten sie, wenn sie mit einer genügend starken Konzentration besetzt sind, unempfänglich sein gegenüber aktivem agglutinierendem Serum. Nach der Richtung hin ausgeführte Versuche entsprachen vollkommen der Erwartung. Bakterien wurden durch die Serumkonzentration 1:100 agglutiniert, abzentrifugiert, gewaschen und hierauf in Bakterienextrakt aufgeschwemmt: jede Agglutination blieb aus. Hierauf wurde abermals abzentrifugiert und gewaschen und schliefslich in der Serumkonzentration 1:1000 aufgeschwemmt. Auch hier blieb während zweistündiger Beobachtung die Agglutination, die in der Kontrolle bereits nach $^1/_4$ Stunde deutlich war, aus.

Als weiteren Beweis hierfür wurden die Versuche derart ausgeführt, dafs die gleiche Serumkonzentration, wie im vorangehenden Versuche (1 Tropfen der Verdünnung 1:4), mit 1 ccm Bakterienextrakt versetzt wurde. Nach $^1/_2$stündigem Verweilen der Mischung bei 37° wurden Bakterien hinzugesetzt und nach kurzer Zeit abzentrifugiert und gewaschen. Nach Aufschwemmung in derselben Konzentration aktiven Serums (1:1000), wie im vorigen Versuche, trat gegenüber der Kontrolle starke Hemmung auf, die jedoch nicht so stark war wie im vorhergehenden Versuche, wo die Agglutination während zweistündiger Beobach-

tung vollständig ausblieb. Die Ursache dieser schwächeren Wirkung dürfte in folgendem gelegen sein: Wird eine starke Serumkonzentration mit nicht genügend wirksamen Bakterienextrakt gemischt, so vermag derselbe nur einen Teil des vorhandenen Agglutinins zu inaktivieren. Bringt man jetzt Bakterien hinein, so bleibt die Vorstellung, dafs dieselben nicht vollständig mit inaktiviertem Serum besetzt und demnach auch nicht vollständig inagglutinabel sind. Im Gegensatz dazu binden Bakterien aus derselben Serumkonzentration nur einen Teil des Agglutinins, und zur Paralysierung dieses Teiles reicht die Konzentration der hemmenden Substanz eben aus, und das bereits an die Bakterien gebundene Agglutinin wird vollständiger inaktiviert.

Über die Wirkung des Bakterienextraktes mufsten noch Versuche mit inaktiviertem Serum Klarheit verschaffen. Die Bindung des inaktivierten Serums an die Bakterien mufste verhindert werden, wenn die hemmende Substanz als freier Rezeptor wirkt, mufste jedoch stattfinden, wenn die hemmende Substanz nicht durch Bindung des Agglutinins, sondern durch Inaktivierung desselben wirkt. Im ersten Falle müfsten Typhusbazillen, die mit inaktiviertem Serum und Bakterienextrakt behandelt sind, von aktivem Serum agglutiniert werden, in letzterem Falle wegen der Besetzung mit Agglutinoiden inagglutinabel sein. Ein derart ausgeführter Versuch sei hier beschrieben. Zu je 1 ccm Kochsalzlösung und 1 ccm Bakterienextrakt wurden je 2 Tropfen inaktivierten Serums (1 Stunde auf 75° erwärmt) von der Konzentration 1:8 gegeben, wodurch die Bakterien, die nach einiger Zeit hinzugefügt wurden, unter der Einwirkung der Konzentration inaktivierten Serums 1:100 standen. Nach ½stündigem Verweilen im Brutschrank, nach Abzentrifugieren und Waschen der Bakterien werden dieselben in beiden Röhrchen der Serumkonzentration 1:1000 ausgesetzt. Während die Agglutination in der Kontrolle nach ¼ Stunde zu beobachten war, blieb dieselbe während zweistündiger Beobachtung bei 37° in den beiden oben erwähnten Röhrchen aus. Dieser Versuch beweist, dafs trotz Anwesenheit der hemmenden Substanz die Besetzung mit inaktiviertem Serum stattfand, in demselben Grade wie bei Nicht-

vornandensein derselben. Die Wirkung eines freien Rezeptors scheint nach diesem Versuche ausgeschlossen.

Von der Annahme einer fast unbeschränkten Bindúng des Agglutinins an die Bakterien ausgehend (Eisenberg und Volk), wurde versucht festzustellen, wie oft sich dieselben Bakterien mit Kochsalzlösung bei 60° extrahieren lassen, um einen wirksamen Extrakt zu liefern. Es zeigte sich, dafs schon nach der ersten Extraktion nur mehr ganz schwach hemmende Flüssigkeiten zu erlangen waren.

Wenn wir nun alle jene Momente prüfen, welche für das Vorhandensein freier Rezeptoren als Ursache der hemmenden Wirkung sprachen, so sehen wir, dafs dieselben auch vollkommen mit der Anschauung in Einklang zu bringen sind, dafs die hemmende Substanz im Bakterienextrakt das Agglutinin nicht durch Bindung, sondern durch Inaktivierung unwirksam macht. Diejenigen Umstände jedoch, welche der Wirkung von freien Rezeptoren widersprechen, finden nach obiger Deutung eine ungezwungene Erklärung.

Es läfst sich also, um das Ergebnis dieser Untersuchung zusammenzufassen, durch Kochsalzlösung aus den Typhusbazillen eine Substanz extrahieren, welche befähigt ist, die Serumagglutinine zu inaktivieren. Inwiefern dieser Bakterienextrakt spezifisch ist und mit der Bildung von Agglutinin im Tierkörper zusammenhängt, darüber werden weitere Untersuchungen Aufschlufs geben.

Untersuchungen über die Aggressivität des Choleravibrio.

Von

Prof. Dr. **Oskar Bail,**
Assistenten des Institutes.

(Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

In einer vor kurzem in diesem Archiv, Band 52, veröffentlichten Abhandlung wurde über die Aggressivität von Bakterien, insbesondere von Typhusbazillen und Choleravibrionen, berichtet. Da das Vorhandensein und die Besonderheit von aggressiven Bakterieneigenschaften die Grundlage einer neuartigen Anschauung über Infektion und Immunität zu bilden geeignet erscheint, so mögen die wesentlichen Punkte nochmals kurz hervorgehoben werden.

Jeder Bazillus mufs, um sich im Körper eines Tieres halten und weiterhin durch seine Vermehrung Krankheit hervorrufen zu können, über die Fähigkeit verfügen, die Schutzkräfte desselben lahmzulegen oder abzuhalten. Diese Fähigkeit ist als Aggressivität des betreffenden Bazillus zu bezeichnen, und man kann sie sich in der üblichen Weise durch eigene Stoffe, die Aggressine, erklärt denken, die etwa nach Art eines Toxins abgeschieden werden. Durch geeignete Versuchsanordnung lassen sich im Körper entsprechend geimpfter Tiere krankhafte Flüssigkeiten erzeugen, in welchen die aggressiven Eigenschaften, kürzer gesagt: die Aggressine, nachweisbar werden. Für Typhusbazillen

und Choleravibrionen ist dazu das Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen geeignet, ebenso für Dysenteriebazillen nach den Untersuchungen von Kikuchi[1]); für die Erreger der Hühnercholera läfst sich nach Weil[2]) die Brusthöhlenflüssigkeit von Kaninchen, für Milzbrand das Unterhautödem verschiedener Tiere mit Vorteil verwenden.

Da die Aggressivität die unerläfsliche Vorbedingung für das Wachstum von Bakterien im Tierkörper, somit auch für die Krankheitsmöglichkeit ist, so gibt ihr Fehlen oder ihre Bildung einen guten Einteilungsgrund für Bakterienwirkung auf ein bestimmtes normales Tier ab. Unter Berücksichtigung der dabei zu beachtenden Umstände lassen sich unterscheiden: 1. Reine oder obligat invasive Parasiten; 2. Halbparasiten oder fakultativ invasive Parasiten; 3. Saprophyten.

Die erste Gruppe wird dargestellt von Bakterien, die unter allen Umständen sich im Tierkörper vermehren können, während Halbparasiten dazu nur bei Einimpfung gröfserer Mengen imstande sind und Saprophyten dies überhaupt nicht vermögen. So ist z. B. für das Meerschweinchen der Milzbrand- und wahrscheinlich auch der Tuberkelbazillus reiner Parasit, d. h. beide haften bei jeder Impfart und schon in der geringsten Menge. Der Hühnercholerabazillus, der erst einer gröfseren Individuenzahl und auch oft besonderer Impfart (Weil) bedarf, um sich ungestört vermehren zu können, ist für dieses Tier Halbparasit und ebenso Typhus, Dysenteriebazillen, Choleravibrionen, Staphylokokken usw.

Aufser diesem Hauptmerkmal, der durch starke Aggressivität bedingten unbeschränkten Vermehrungsfähigkeit, unterscheiden sich echte und Halbparasiten wahrscheinlich noch durch eine Reihe von Eigenschaften. Dazu gehört vor allem die ausgesprochene Ausbildung von Giften bei Halbparasiten, die entweder als gelöste Toxine, wie bei Diphtherie, oder als Endotoxine, wie bei vielen anderen Bakterien, leicht nachzuweisen sind, während

1) Kikuchi, dieses Archiv, Bd. 52, S. 378.
2) Weil, dieses Archiv, Bd. 52, S. 412.

sie bei echten Parasiten zwar wahrscheinlich auch nicht fehlen, aber doch nicht leicht aufzufinden sind. Ferner gehört sehr wahrscheinlich eine sehr grofse Unempfindlichkeit gegen die auflösende Wirkung der normalen Körpersäfte zu den Eigenschaften der echten Parasiten, womit es wieder zusammenhängt, dafs die künstliche Steigerung derselben durch Vorbehandlung von Tieren mit Bazillenleibern u. dgl. nur schwer gelingt. Der sehr naheliegende Hinweis auf die Abtötung des Milzbrandbazillus, also eines echten Parasiten, durch Kaninchenserum, hat viel von seiner Bedeutung verloren, seitdem Pirenne[1]) gezeigt hat, dafs diese Keimvernichtung sich von der anderer Bakterien sehr wesentlich unterscheidet. Auch Wilde hatte ja schon viel früher im Kaninchenserum zur Milzbrandvernichtung ein besonderes »Alexin« angenommen.

Im Gegensatz dazu sind Halbparasiten der auflösenden Serumwirkung sehr zugänglich; es ist ja bekannt, welch verhältnismäfsig grofse Mengen von Choleravibrionen durch 1 ccm Kaninchen- oder gar Rinderserum aufgelöst werden können. Jedenfalls hängt damit auch zusammen, dafs die künstlich gesteigerte Bakteriolyse gerade für typische Halbparasiten in besonders hohem Mafse möglich ist. Wie sich die einzelnen Mikroorganismen verhalten, z. B. Staphylokokken, bedarf noch genauerer Untersuchungen, für welche hier ein weites und dankbares Gebiet vorliegt.

Schliefslich wäre es nicht unmöglich, dafs zum Charakter der echten Parasiten die schrankenlose Durchwucherung des ganzen befallenen Tierkörpers gehört, als akuteste Septikämie wie bei der Hühnercholera an Kaninchen und Vögeln, als verhältnismäfsig langsamere bei Milzbrand von Kaninchen und Meerschweinchen, oder als chronisches aber ungehemmtes Weiterwachsen in fast allen Organen wie bei der Tuberkulose der Meerschweinchen. Demgegenüber tritt bei Halbparasiten der lokale Charakter der Erkrankung mehr oder weniger deutlich in den Vordergrund.

---

1) Zentralblatt für Bakteriologie, 1904, Bd. 36.

Von gröfster Wichtigkeit ist aber, dafs die Aggressivität, deren höchste Ausbildung den echten Parasitismus bedingt, variabel oder vielmehr variierbar ist. Es ist ja bekannt, dafs man Milzbrand- oder Hühnercholerabazillen abschwächen kann, so dafs sie sich auch im empfänglichen Tiere nur noch als Halbparasiten oder gar als reine Saprophyten erweisen. Derartige Abstufungen der Aggressivität kann man nach den bisherigen Kenntnissen in der Gruppe der Halbparasiten leicht feststellen. So steht Cholera, wie bereits Hueppe sehr frühzeitig betont hatte, den reinen Saprophyten wahrscheinlich noch sehr nahe, während Typhus sich den Parasiten schon weit mehr nähert.[1]) Staphylokokken und Streptokokken nehmen wahrscheinlich unter den Halbparasiten den höchsten Rang ein und befinden sich z. B. für das Kaninchen auf einem Übergange zum reinen Parasitismus.

Die Variierbarkeit der Aggressivität ist bei echten Parasiten nur verhältnismäfsig schwer und nur nach der negativen Seite hin zu erweisen, indem z. B. ein aus einem gestorbenen Kaninchen gewonnener Milzbrandbazillus seine absolute Aggressivität erst nach Einwirkung von Gewaltmitteln ganz oder teilweise verliert. In der Gruppe der Halbparasiten dagegen gehören Änderungen der Aggressivität zu den gewöhnlichsten Erscheinungen und können im positiven wie im negativen Sinne mit Leichtigkeit erfolgen. Ein Choleravibrio, der z. B. augenblicklich in der Menge von $^1/_{10}$ Öse Agarkultur genug Aggressivität entfaltet, um in der Meerschweinchenbauchhöhle zu wachsen, kann nach verhältnismäfsig kurzer Züchtung diese Fähigkeit zum gröfsten Teile einbüfsen; er gewinnt sie aber durch erzwungenen Aufenthalt im Tierkörper leicht wieder. Es ist klar, dafs hier der Begriff der Aggressivität sich mit dem älteren und unbestimmten der Virulenz fast völlig deckt. Überhaupt werden diese beiden Begriffe vielfach, aber nicht immer, zusammenfallen. Der Begriff der Virulenz setzt die eingeimpfte Bazillenmenge nur mit der Krankheit oder dem Tode eines Tieres in Beziehung, mit der Bezeichnung Aggressivität ist die bestimmte Vorstellung einer Wachstumsmöglichkeit im Or

1) Vgl. dieses Archiv, Bd. 52, S. 369.

ganismus durch Abhaltung der Schutzkräfte verbunden. Wenn nach der wichtigen Entdeckung Pfeiffers eine bestimmte Vibrionenzahl Meerschweinchen typisch tötet, so gibt diese Menge das Mafs der Virulenz, auch wenn keine Vermehrung erfolgt ist. Die Aggressivität des gleichen Cholerastammes wäre aber eine andere, und zwar niedrigere, da erst eine gröfsere Vibrionenmenge die Schutzkräfte des Körpers genügend abhalten kann, um aktive Vermehrung herbeizuführen. Die Vergiftung, die in diesem Falle Krankheit und Tod herbeiführt, ist das Sekundäre, für die Aggressivität entscheidet die Möglichkeit der eigenen Vermehrung im Tiere. Die Wichtigkeit dieser Feststellung wird nicht beeinflufst durch die später noch zu besprechende Erscheinung, dafs die Vergiftung selbst durch künstlich gewonnene aggressive Flüssigkeiten begünstigt werden kann. Noch deutlicher wird der Unterschied zwischen Aggressivität und Virulenz bei Betrachtung der toxinbildenden Bakterien. Die meisten Stämme von Tetanusbazillen wird man als hochvirulent bezeichnen müssen, da sie, in geringster Menge eingeimpft, den charakteristischen Tod erzeugen. Ihre Aggressivität ist aber dabei aufserordentlich gering, da sie erst bei geeigneter Impfmethode sich vermehren, vielleicht überhaupt im ganz gesunden Gewebe nicht wachsen können. Von Diphtheriebazillen gilt ähnliches.

Es mögen hier einige Worte über das Verhältnis von toxischer und aggressiver Wirkung eingeschaltet werden. Beide können z. B. in einem Dysenterieexsudate nebeneinander vorhanden sein und biologisch getrennt werden, wenn zwei Tiere von sehr verschiedener Toxinempfindlichkeit zur Verfügung stehen (Meerschweinchen und Kaninchen bei Dysenterie). Dies sowie der Umstand, dafs die ausgesprochen aggressiven Flüssigkeiten, die man bei echten Parasiten gewinnen kann, jeder Giftwirkung entbehren, ist der zwingende Grund, beide Wirkungen auseinanderzuhalten. Sollte sich etwa herausstellen, dafs die aggressive nur ein Teil der Giftwirkung wäre, so bleibt derselben doch ihre Wichtigkeit, die Abhaltung der Körperschutzkräfte erhalten. Man könnte sich ganz gut vorstellen, dafs Ausscheidungs- oder Auflösungsprodukte von Bazillen schon in geringer Konzentration

Leukozyten abhalten, d. h. die bisher einzig sichtbar zu machende Wirkung der »Aggressine« entfalten, während in stärkerer die giftige, den Tierorganismus unmittelbar schädigende herrschend hervortritt. Negative Chemotaxis, vermutlich die wichtigste Eigenschaft der Aggressine[1]) ist ja bereits mehrfach bei Stoffwechselprodukten von Bakterien untersucht worden (vgl. die Literatur bei Metschnikoff), und es hindert nichts, auch die Aggressivität so zu bezeichnen, wenn sie wirklich nur in der Leukozytenabhaltung besteht. Denn es kann nicht scharf genug betont werden, dafs dort, wo von Aggressinen wie von Stoffen gesprochen wird, zunächst nur Eigenschaften gemeint sind, die einer sonst in ihrer Zusammensetzung unbekannten Flüssigkeit zukommen, und für welche die üblich gewordene materialisierende Ausdrucksweise der Kürze halber gewählt wurde. Sollten sich als Träger dieser Eigenschaften bestimmt charakterisierte, bei genauerer Kenntnis chemisch darstellbare Stoffe herausstellen, dann ist es um so besser. Vorläufig aber ist diese einschränkende Bemerkung durchaus notwendig und das Studium der »Aggressine« verliert dadurch, namentlich mit Rücksicht auf ihre immunisierenden Wirkungen nichts an seinem Werte.

Hat man sich einmal mit dem Begriff der Aggressivität vertraut gemacht, so ist es nicht schwer, die Verhältnisse der Aggressivität bei verschiedenen Bakterien, die Stärke derselben u. dgl. aus dem Infektionsverlaufe, der Keimzahl in den Organen und ähnlichen Vorkommnissen zu erschliefsen. Das würde aber nur ein blofser, wenn auch vielleicht sehr nützlicher Begriff bleiben, wenn es nicht gelingt, die Aggressivität eines Bazillus gewissermafsen in Gestalt seiner Aggressine zu materialisieren, d. h. sie getrennt von den Bazillen zu erhalten und ihre Wirkung deutlich zu machen.

Das ist zurzeit wenigstens noch nicht leicht. Zwar gelingt es, in krankhaften Flüssigkeiten eine Anzahl von Eigenschaften

1) D. h. der Aggressine in Verbindung mit den zugehörigen Bazillen. Aggressine Flüssigkeiten allein wirken nicht stark negativ chemotaktisch. Über diese wichtigen Verhältnisse wurden eingehende Studien bei Typhus und Tuberkelbazillen gemacht, die ihrem Abschlusse nahe sind.

nachzuweisen, die dem Begriff der Aggressivität entsprechen; aber dieser Aggressinnachweis ist sozusagen bisher nur ein qualitativer, entbehrt noch der Feinheit, bedarf verhältnismäfsig grofser Flüssigkeitsmengen. Das kann nicht wundernehmen und darf kein Vorwurf sein; denn wenn man sich auch über die Ausbildung von Aggressinen nach der Art des Infektionsverlaufes bestimmte Vorstellungen machen kann, so fehlen doch noch sichere Anhaltspunkte dafür, wie man die Aggressine möglichst reichlich an bestimmten Stellen des Körpers zur Ansammlung bringen und nachher gewinnen kann. Das aber ist für das Arbeiten notwendig, und so bleibt hier noch viel zu tun.

Am empfindlichsten ist dabei die mangelnde Beständigkeit der Aggressinbefunde, wie sie z. B. bei Choleraversuchen hervortritt. Im Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen lassen sich gegebenenfalls alle Aggressineigenschaften leicht nachweisen; es kommen aber oft genug Tiere vor, deren Exsudate selbst in grofsen Mengen unwirksam sind, ohne dafs man den Grund dafür angeben könnte. Dem gleichen Übelstande begegnete Kikuchi bei Dysenteriebazillen, so dafs er es »bis zu einem gewissen Grade als Glücks- und Zufallssache« bezeichnete, ein wirksames Aggressin zu finden[1]). Versuche, die Beschaffenheit und den Zellgehalt solcher Exsudate als Kennzeichen höherer oder geringerer Aggressivität zu verwerten, hatten schliefslich keinen sicheren Erfolg.

Weitere Versuche in dieser Richtung wurden durch folgende Erwägung veranlafst. Echte Parasiten, wie Hühnercholera (Weil) und Milzbrand, ergeben fast ausnahmslos wirksame Aggressine. Da aber, wie bereits oben bemerkt wurde, die Aggressivität offenbar eine variierbare Eigenschaft ist, so könnte man versuchen, sie bei einem bestimmten Choleravibrio so zu steigern, dafs derselbe dadurch dem Zustande echter Parasiten genähert würde. Eine leichtere und sicherere Aggressingewinnung könnte dann die Folge sein. Kikuchi[2]) hat bereits für Dysenteriebazillen in dieser Hinsicht sehr bemerkenswerte Ergebnisse erzielt.

1) Kikuchi, dieses Archiv, Bd. 52, S. 393.

2) Berliner klinische Wochenschrift, 1905, Nr. 15.

Das einzige Mittel, das für solche Versuche zur Verfügung steht, ist das, den Choleravibrio zum beständigen Aufenthalte im Tierkörper zu zwingen, also bei intraperitonealer Meerschweinchenimpfung fortgesetzt das gebildete Exsudat ohne Einschaltung künstlicher Kulturen als Infektionsstoff zu verwenden. Derartige Versuche sind bereits mehrfach unternommen worden, und es wird auf die wichtigsten derselben später eingegangen. Dabei kam es darauf an, ob eine unbegrenzte Infektionsreihe möglich sei. Dies war bei den folgenden Serienimpfungen nicht der Zweck, weshalb auch abgebrochen wurde, sobald das angestrebte Ziel, die Aggressingewinnung, als erreicht gelten konnte. Die verwendete Kultur ist die gleiche wie in den früheren Versuchen.

I. Reihe.

Meerschweinchen 259. Erhält 1 Agarkultur Cholera-»Stamm« ip. Stirbt nach ca. 11 Std. und enthält ca. 8 ccm wenig trübes, dünnes Exsudat mit spärlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten mit schwacher Phagozytose. Massenhaft Vibrionen, öfters in Klumpen, vielfach sehr lang (Spirillenform). Spärliche, zellarme, mehr fibrinöse Auflagerungen am Netz und der Leber mit grofsen, polynukleären Leukozyten und schwacher Granulaphagozytose. Dazwischen zahlreiche Vibrionen.

Meerschweinchen 260. Erhält 3 ccm frisches, nicht verändertes Exsudat von Nr. 259 ip. Stirbt in der Nacht. Enthält ca. 6 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat mit spärlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten und grofse Mengen von oft sehr langen Vibrionen. Auflagerungen fehlen.

Meerschweinchen 261. Erhält 2 ccm frisches Exsudat von 260 ip. Stirbt bereits abends nach ca. 10 Std., konnte aber erst am nächsten Tage seziert werden. Es enthielt ca. 4 ccm mäfsig trübes, etwas fadenziehendes Exsudat mit einer mäfsigen Zahl kleiner, polynukleärer Leukozyten ohne Phagozytose. Vibrionenbefund wie bisher. Keine Auflagerungen.

Meerschweinchen 262. Erhält 1 ccm frisches Exsudat von 261 ip. Stirbt nach 10 Std. mit schwerster Infektion, ohne Auflagerungen. ca. 9 ccm trübes Exsudat, das aufser einer Anzahl von Endothelien fast keine Zellen, aber grofse Mengen von langen Vibrionen enthält.

Meerschweinchen 263. Erhält 0,5 ccm frisches Exsudat von 262 ip. Stirbt nach 15 Std. Enthält ca. 2 ccm dickes, trübes Exsudat mit einer mäfsigen Zahl kleiner, polynukleärer Zellen, fast ohne Phagozytose, massenhafte Vibrionen. Mäfsig reichliche Auflagerungen auf Netz, Leber, Milz, aus grofsen polynukleären Leukozyten mit starker Granulaphagozytose; dazwischen zahlreiche normale Vibrionen. In der Milz sind mikroskopisch grofse Mengen von Vibrionen nachzuweisen, spärlicher, aber ohne Mühe zu finden sind sie in Leber und Herzblut. Ausstriche auf Agar liefern aus allen Organen üppiges, zusammenhängendes Wachstum.

Meerschweinchen 270. Erhält zuerst 0,001 ccm Immunserum »Pfeiffer«, gleich darauf 0,4 ccm frisches Exsudat von 263 ip. Eine Kapillarentnahme zeigt nach 5 Std. bereits zahlreiche, teils unbewegliche teils schwärmende Vibrionen, daneben mäfsig viele Granula. 2 Std. später sind ziemlich viel Leukozyten aufgetreten; massenhaft Vibrionen neben Granula. Stirbt nach genau 24 Std. Enthält 2,5 ccm dickes, trübes Exsudat mit vielen polynukleären Leukozyten, die z. T. in schon makroskopisch sichtbaren Klumpen vereint sind. Grofse Mengen von Vibrionen, daneben viel weniger Granula. Auflagerungen verhältnismäfsig wenige, mit dem gewöhnlichen Befunde. Kulturen aus Exsudat ∞, aus Leber ca. 200, aus Herzblut ca. 600 Kolonien (je 1 Öse).

Meerschweinchen 271. Geimpft wie 270, aber ohne Immunserum. Stirbt in der Nacht und enthält ca. 3 ccm trübes Exsudat mit einer beträchtlichen Anzahl meist verklumpter, kleiner, polynukleärer Leukozyten. Vibrionen in grofser Zahl. Eitrige Auflagerungen reichlicher als bisher. Kulturell aus Exsudat ∞, aus Milz 74, aus Leber 123, aus Herzblut 560 Kolonien (je 1 Öse).

Meerschweinchen 272. Erhält zuerst 0,001 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 0,4 ccm frisches Exsudat von 271 ip. Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 273. Geimpft wie 272, ohne Serum. Bleibt am Leben.

Im Anschlufs an diese Reihe seien sofort die Aggressivitätsversuche mit Exsudaten angeführt. Geprüft wurde die Aggressinwirkung durch gleichzeitige oder meistens nachträgliche Einspritzung der Exsudate mit Immunserum »Pfeiffer« und Choleravibrionen.

a) Mischung aus 2 ccm Exsudat 261 mit 2,5 ccm Exsudat 260 mit Toluol sterilisiert.

Meerschweinchen 267. Erhält 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur ip. $^1/_4$ Std. später sind nur Granula vorhanden, deren Zahl sich nach einer weiteren $^1/_4$ Std. bereits vermindert hat. Jetzt erhält das Tier 3,5 ccm obiger Exsudatmischung ip. Im weiteren Verlaufe verschwinden die Granula nach 3 Std. vollständig. Leukozyten treten nach 5 Std. auf, bleiben aber weit weniger zahlreich als sonst, und ihre Zahl vermindert sich eher bis zu 8 Std. nach der Infektion. Dabei ist das Tier um diese Zeit typisch cholerakrank, schlaff und liegt auf der Seite. Wider Erwarten ist es am andern Morgen noch am Leben, sogar etwas erholt und die Bauchhöhle enthielt jetzt Eiter. Es starb nach 32 Std. Reichlich sulziges Ödem unter der Haut ohne Zell- und Bazillenbefund[1]). Einige Tropfen Exsudats im Bauchraum mit kleinen und grofsen polynukleären Leukozyten. Von Auflagerungen finden sich nur am Netz einige kleine Flöckchen, die grofse, polynukleäre Zellen mit Granulaphagozytose enthalten und überdies Vibrionen von gutem Aussehen. Kulturen aus dem Exsudate bleiben steril, Ausstriche aus den Auflagerungen liefern spärliches Wachstum.

---

1) Das Auftreten von Unterhautödemen ist bei Versuchen mit Aggressinen verschiedener Bazillen (Cholera, Dysenterie, Tuberkulose) sehr häufig. Meist läfst sich darin überhaupt nichts finden.

b) Exsudat von 262 völlig klar zentrifugiert, ca. 24 Std. kalt aufbewahrt, nicht sterilisiert.

Meerschweinchen 268. Erhält 3 ccm Exsudat, gleich darauf 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur. Nach $^1/_4$ Std. finden sich fast nur Granula, nach 2 Std. sind sie bereits vollständig verschwunden. Erst nach 3 Std. treten Leukozyten in geringer Zahl, meist zu Klumpen geballt, auf, ihre Zahl steigt sehr langsam bis zu 8 Std., bleibt aber immer verhältnismäfsig klein. Abends ist das Tier sehr hinfällig und bleibt so bis zu dem nach 2 Tagen erfolgten Tode. Es finden sich in der Bauchhöhle weder Exsudat noch Auflagerungen. Auffällig ist die starke Degeneration, fast Verfettung, der Leber.

Meerschweinchen 269. Erhält 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur ip. Nach $^1/_4$ Std. sind nur Granula vorhanden und das Tier erhält jetzt 3 ccm Exsudat ip. Noch nach 3 Std. fehlen Leukozyten fast vollständig, erst nach 6 Std. treten sie ganz vereinzelt auf und bleiben bei schwerer Krankheit des Tieres sehr spärlich. Der Tod tritt in der Nacht ein. In dem ca. 3 ccm fast klaren Exsudate der Bauchhöhle sind nur wenige Lymphozyten und zusammengeballte, kleine, polynukleäre Zellen enthalten. Auf dem Netz finden sich einige kleine, weifse Flöckchen, mit polynukleären Leukozyten und schwacher Granulaphagozytose. Überdies lassen sich hier gut erhaltene Vibrionen ohne Mühe auffinden, während sonst weder Granula noch Vibrionen zu finden sind. Kulturen liefern aus 1 Öse Exsudat 29 Kolonien, aus den Flöckchen dichte Beläge.

II. Reihe.

Meerschweinchen 280, 290 g. 1 Öse Choleraagarkultur ip. Stirbt nach 12 Std. und liefert 4 ccm mäfsig trübes, dünnes Exsudat mit wenigen kleinen, polynukleären Leukozyten und schwacher Phagozytose. Vibrionen in Menge, vielfach verknäuelt. Keine Auflagerungen. In der Milz lassen sich spärliche und unsichere, in Herz und Leber keine Vibrionen finden.

Meerschweinchen 281, 430 g. Erhält 2 ccm frisches Exsudat 280 ip. Stirbt nach ca. 20 Std. mit dem Befunde der verhältnismäfsig leichten Infektion, ca. 2,5 ccm sehr dickes, trübes Exsudat mit sehr zahlreichen kleinen, aber auch grofsen, polynukleären Leukozyten mit guter Granulaphagozytose. Vibrionen sehr reichlich, wobei aber auffällt, dafs lange Formen sowie Knäuelbildung weit spärlicher sind als sonst im Verlauf der Reihen. Dicker Eiter auf der Leber mit dem gewöhnlichen Befunde grofser, polynukleärer Zellen und starker Granulaphagozytose. Dazwischen Vibrionen. Mikroskopisch Vibrionen in der Milz spärlich, in Leber und Herz nicht nachweisbar. — Die Bauchhöhle des Tieres wird nach Entnahme des Exsudats mit 2 ccm NaCl-Lösung ausgespült, beide Flüssigkeiten vereinigt und dann zentrifugiert, bis die obenstehende Flüssigkeit etwa die Trübung einer jungen Peptonwasserkultur besitzt. Der Satz samt den Zellen wird in NaCl-Lösung aufgeschwemmt.

Meerschweinchen 282, 325 g. Erhält 3,5 ccm der Flüssigkeit ip. Stirbt nach 10 Std. und enthält nur etwa 2 ccm dünnes, trübes Exsudat mit einer mäfsigen Anzahl von kleinen, polynukleären Leukozyten und schwacher Granulaphagozytose. Massenhaft Vibrionen, oft sehr lang und verknäuelt. Leber und Milz mit dünnen, eitrigen Überzügen, die den gewöhnlichen Befund zeigen. Milz vergröfsert; darin sowie in der Leber und im Herzblut zahlreiche Vibrionen mikroskopisch nachweisbar. Kulturell aus allen Organen üppige Kulturen.

Meerschweinchen 283, 315 g. Erhält den in 3,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmten Satz von Exsudat 281 ip. Stirbt nach ca. 10 Std. und liefert 5 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat mit spärlichen, kleinen, polynukleären Zellen, ohne Phagozytose. Vibrionen massenhaft, fast sämtlich verknäuelt. Mikroskopisch in Milz und Leber zahlreiche, im Herzen keine Vibrionen gefunden. Kulturell von überallher üppige Kulturen.

Meerschweinchen 284, 310 g. Erhält zuerst 0,002 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 2 ccm frisches Exsudat 283 ip. War am Abend sehr krank, erholte sich dann, magerte aber zusehends ab und starb am 4. Tage ohne besonderen Befund marastisch.

Meerschweinchen 285, 260 g. Geimpft, wie 284 ohne Immunserum. Stirbt nach 8 Std. und liefert ca. 8 ccm trübes, etwas dickliches Exsudat, das fast nur Vibrionen in langen Knäueln enthält; wenige kleine, polynukleäre Zellen mit Granulaphagozytose. Keine Auflagerungen. Kulturell gingen aus allen Organen und dem Herzen üppige Kulturen auf.

Meerschweinchen 286, 250 g. Erhält 0,8 ccm frisches Exsudat von 285 ip. und stirbt nach weniger als 11 Std. Es enthält ca. 4 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat, mit spärlichen kleinen, polynukleären Leukozyten und massenhaften Vibrionen in der gewöhnlich beobachteten Form und Anordnung. Keine Auflagerungen. Herz, Milz und Leber ergeben üppige, Lunge spärlichere Kulturen.

Meerschweinchen 287, 230 g. Erhält zuerst 0,001 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 0,5 ccm frisches Exsudat von 286 ip. Die fortlaufende Beobachtung ergibt nach $1\frac{1}{2}$ Std. eine beträchtliche Anzahl meist zusammengeballter Leukozyten, spärliche Granula und unbewegliche Vibrionen. Nach 3 Std. hat die Zahl der Leukozyten nicht weiter zugenommen. Vibrionen finden sich vereinzelt neben auffällig vielen Körnchen. Nach 6 Std. enthält das deutlich kranke Tier mäfsig viel Leukozyten, zum Teil in Klumpen, wimmelnde Vibrionen, die aber sehr kurz aussehen, neben sehr vielen Körnchen. Der Tod erfolgt in der Nacht. Das in sehr geringer Menge vorhandene Exsudat enthält ziemlich reichlich kleine, polynukleäre Leukozyten mit stärkster Granulaphagozytose, sehr viele normale Vibrionen neben noch mehr gequollenen und Körnchen. Reichliche Auflagerungen mit Granulaphagozytose in grofsen, polynukleären Leukozyten.

Meerschweinchen 288, 210 g. Geimpft wie 287, ohne Serum. Stirbt nach 11 Std., enthält aber nur sehr wenig Exsudat, fast ohne Zellen, mit dem gewöhnlichen Vibrionenbefunde. Fast keine Auflagerungen. In Leber, Milz und Herzblut sind bereits mikroskopisch zahlreiche Vibrionen nachweisbar.

Die Reihe wurde bei diesem Tiere abgebrochen; zum Aggressinversuche diente das sehr sorgfältig und ganz klar zentrifugierte Exsudat von Nr. 286.

Meerschweinchen 289, 200 g. Erhält 2 ccm Exsudat, gleich darauf 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur aus Nr. 282. Nach 20 Minuten nur Granula. Während der ganzen 7stündigen Beobachtungsdauer traten nur ganz spärliche Leukozyten in die Bauchhöhle ein. Der Tod trat in der Nacht ein. Es fanden sich ca. 2 ccm wenig trüben, etwas dicklichen Exsudates, mit einer mäfsigen Zahl kleiner, polynukleärer Leukozyten ohne Phagozytose. Weder Körnchen noch Vibrionen. Nur am Netz finden sich einige kleine Auflagerungen mit grofsen, polynukleären Zellen und starker Granulaphagozytose. Zwischenliegend vereinzelte normale Vibrionen.

Meerschweinchen 290, 240 g. Erhält 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur ip., 20 Minuten später, wo nur noch Granula in der Bauchhöhle vorhanden sind, 2 ccm Exsudat ip. Wie bei 289 treten während der ganzen Beobachtungsdauer fast keine Leukozyten auf. Typisch krank war das Tier bereits nach 4 Std., doch trat der Tod erst in der Nacht ein. In der Bauchhöhle fand sich wenig, fast klare Flüssigkeit mit spärlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten, ohne Vibrionen und Granula. Am Netz waren zwei kleine, weifse Flocken mit dem gleichen Befunde wie bei 289.

III. Reihe.

Meerschweinchen 296, 470 g. Erhält 1 Agarkultur der wenig virulenten Stammcholera ip. Stirbt erst nach 21 Std. und liefert 3,5 ccm trübes, dickes Exsudat mit zahllosen Vibrionen und sehr vielen, meist kleinen, polynukleären Leukozyten und starker Granulaphagozytose. Reichliche Auflagerungen.

Meerschweinchen 297, 510 g. Erhält das fast klar zentrifugierte Exsudat von 296 + $^1/_{15}$ des zellfrei gemachten Satzes aus diesem Exsudate (Satz in warmem, sterilem Wasser aufgeschwemmt, durch Papier filtriert, wieder zentrifugiert). Stirbt in der Nacht und liefert 10 ccm dünnes, trübes, fast zellfreies Exsudat, dessen Trübung so gut wie ganz aus Vibrionen besteht. Wenige kleine, weifse Flocken am Netz mit dem gewöhnlichen Befunde. Ausstriche der Organe ergeben aus Leber und Milz je ca. 800—900, aus der Lunge 29, aus dem Herzblut 320 Kolonien.

Meerschweinchen 298, 530 g. Erhält 2 ccm frisches Exsudat 297 ip., stirbt nach 7 Std. und enthält 3 ccm dünnes, trübes, fast zellfreies Exsudat mit massenhaften, z. T. in Haufen liegenden Vibrionen. Keine Auflagerungen. Ausstriche aus Leber, Milz, Lunge und Herzblut ergeben dicht zusammenhängende Beläge.

Meerschweinchen 302, 350 g. Erhält zuerst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 1,5 ccm frisches Exsudat von 298 ip. Nach 2 Std. finden sich in der Bauchhöhle neben wenig Leukozyten und vielen Körnchen eine kleine

Zahl normaler, aber unbeweglicher Vibrionen. Nach 4 Std. fehlen Leukozyten noch immer; viele Granula, vereinzelte Vibrionen. Nach 15 Std. enthält die Bauchhöhle des sehr kranken Tieres eitriges Exsudat, noch immer Granula. Der Tod erfolgt nach ca. 40 Std. Starkes Hautödem, ohne Zell- und Bazillenbefund. In der Bauchhöhle ca. 2 ccm wenig trübes, dünnes Exsudat mit verhältnismäfsig recht wenigen, kleinen, polynukleären Leukozyten ohne Vibrionen und Körnchen. Sehr spärliche, fibrinöse, relativ zellarme Auflagerungen. (Nach dem Exsudatbefunde nach 15 Std. hätte eigentlich überall Eiter erwartet werden müssen!) In beiden Pleuren ca. 5 ccm fast zellfreie Flüssigkeit. Kulturen daraus, sowie aus Hautödem, Leber, Milz und Herzblut bleiben steril, eine Öse Peritonealexsudat liefert 300 Kolonien.

Meerschweinchen 303, 350 g. Geimpft wie 302, ohne Serum, stirbt in der Nacht und ergibt 7,5 ccm fast zellfreies, trübes, dünnes Exsudat mit massenhaften, teils einzelnen teils zusammengeballten Vibrionen, die länger werden als bisher. Keine Auflagerungen. Kulturen aus Milz Leber, Lunge und Herzblut ergeben dicht zusammenhängende Beläge.

Meerschweinchen 304, 720 g. Erhält 1,75 ccm frisches Exsudat von 303, stirbt nach $8^1/_2$ Std. und liefert 9 ccm dünnes, trübes, fast nur Vibrionen enthaltendes Exsudat. Keine Auflagerungen. In der Bauchhöhle ca. 3 ccm wenig trübe Flüssigkeit mit spärlichen Zellen und Vibrionen. Ausstriche aus Milz und Leber ergaben ca. 500, aus Lunge 79, aus Herzblut 1280 Kolonien.

Meerschweinchen 307, 490 g. Erhält 1,5 ccm frisches Exsudat von 304, stirbt nach 14 Std. und enthält ca. 5 ccm leicht blutiges Exsudat mit einer geringen Zahl kleiner, polynukleärer Leukozyten mit Phagozytose und unzähligen Vibrionen. Sehr dünne, spärliche Auflagerungen. Kulturen aus Leber, Milz, Lunge und Herzblut ergeben dicht zusammenhängende Beläge.

Meerschweinchen 308, 510 g. Erhält zuerst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, dann wie 307. Ist einige Tage krank und magert stark ab.

Meerschweinchen 309 (Gewicht nicht notiert). Erhält 1,25 ccm frisches Exsudat von 307, stirbt nach 10 Std. und enthält 9 ccm dünnes, trübes Exsudat mit Massen von Vibrionen, spärlichen kleinen, polynukleären Leukozyten, etwas mehr Endothelien. Milz auffällig vergröfsert und dunkel. Kulturen aus Milz, Leber und Herz ergeben dichte, solche aus Lunge reichliche, aber aus erkennbaren Kolonien zusammengesetzte Beläge.

Meerschweinchen 310 (Gewicht?). Erhält erst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, dann wie 309 ip. Die fortlaufende Beobachtung ergibt nach 1 Std. nur Granula, Leukozyten strömen nach 3 Std. und später reichlich zu, sind aber meist zusammengeballt. Dennoch ist das Tier abends schwer krank, erholt sich nicht mehr ganz, magert ab und stirbt nach 4 Tagen marastisch ohne sonstigen Befund.

Meerschweinchen 314, 390 g. Erhält 1,5 ccm. Exsudat 309 ip., stirbt nachts und liefert ca. 10 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat, das fast nur Vibrionen enthält. Keine Auflagerungen. Milz dunkel und stark vergröfsert. Kulturen aus Leber und Herz liefern dichte Beläge, die aus Milz und Lunge ca. 500 und 800 Kolonien.

Meerschweinchen 315, 375 g. Erhält erst 0,02 Serum »Pfeiffer«, dann wie 314 ip. Wird krank und magert stark ab.

Von den Tieren dieser mit Nr. 314 abgebrochenen Reihe wurden die Exsudate von 297, 303, 304, 309 und 314 auf ihr aggressives Verhalten geprüft. Alle Exsudate waren völlig klar zentrifugiert, sterilisiert war überdies das von Nr. 309. Wie bereits bei Nr. 267 wurde das aggressinhaltige Exsudat nicht nur gleichzeitig oder vor der Vibrionen-Immunserummischung eingespritzt, sondern nachträglich, zu einer Zeit, wo die aus der Bauchhöhle entnommenen Flüssigkeitsproben die alleinige Anwesenheit von Körnchen ergaben. Bei den stets in beträchtlichem Überschusse verwendeten Serummengen war das in kürzester Zeit erfolgt. Das Ergebnis der Aggressinanwendung war, wie immer, eine Abhaltung der Leukozyten oder eine Verzögerung ihres Zutritts, offenbar je nach Menge und Stärke des verwendeten Aggressins. Der Tod erfolgte immer, und zwar mehrmals früher als bei gleichzeitiger Aggressin- und Seruminjektion. Damit ist so gut wie sicher nachgewiesen, dafs es sich bei der Aggressinwirkung um eine Vergiftung handle, nicht als ob das aggressive Exsudat selbst giftig wäre, sondern so, dafs die eingespritzten Vibrionen hinreichend Gift enthalten, das durch die Immunserumbakteriolyse leicht und schnell zur Aufsaugung fähig gemacht wird. Während bei einem gewöhnlichen Pfeifferschen Versuche das freigewordene Gift offenbar durch die zuströmenden Leukozyten in irgend einer Weise unschädlich gemacht wird, bewirkt die durch das Aggressin herbeigeführte Zellabhaltung freie und ungehinderte Giftresorption, die entweder zum schnellen Tode innerhalb 24 Stunden oder zu einem mehr chronischen Vergiftungszustande mit Marasmus führt. Auf das Unzureichende der Bakteriolyse, das durch diese Versuche aufgedeckt wird, wurde bereits früher hingewiesen.[1])

Die Versuche wurden noch in einer andern Richtung erweitert. Da das Aggressin sich gegen die Leukozyten richtet, so lag der Gedanke nahe, dafs auch umgekehrt Leukozyten das

1) Wiener klinische Wochenschrift, 1905, Nr. 9.

Aggressin beeinflussen könnten. Kikuchi[1]) hat bereits für das Aggressin des Dysenteriebazillus nachgewiesen, dafs dasselbe durch Leukozytenbehandlung seine Wirkung vollständig einbüfst. Das gleiche gilt auch bei Cholera, nur dafs die Aggressivität hier nicht vollständig aufgehoben wurde. Die Versuchstiere blieben zwar am Leben, waren aber lange krank und magerten sehr stark ab. Quantitative Versuche stehen noch aus[2]).

Meerschweinchen 299, 200 g. Erhält zuerst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 3,5 ccm Exsudat + 1 Öse Choleraagarkultur aus 296 ip. Nach 1/4 Std. nur Granula, wenig Leukozyten. Nach 3 1/2 Std. treten die ersten Leukozyten auf, werden nach 6 Std. etwas zahlreicher, sind meist verklumpt und nehmen dann eher ab als zu. Der Tod tritt in der Nacht ein. In den wenigen Tropfen Flüssigkeit der Bauchhöhle finden sich ziemlich viele kleine, polynukleäre Zellen. Auflagerungen sind ansehnlich, die Milz ist vergröfsert. Vibrionen und Granula waren nicht zu finden, doch lieferte 1 Öse Exsudat 6 Kolonien.

Meerschweinchen 300, 205 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Cholera wie 299 ip. Nach 1/4 Std. sind in der Bauchhöhle nur noch Granula vorhanden, und es werden 3,5 ccm Exsudat 297 eingespritzt. Leukozyten treten in irgend erheblicher Zahl während 9 Std. nicht in die Bauchhöhle über, die Granula sind nach 2 Stunden verschwunden. Der Tod erfolgt in der Nacht. Starkes Hautödem ohne Befund. In der Bauchhöhle ca. 2 1/2 ccm mäfsig trübes Exsudat mit ziemlich viel kleinen, polynukleären Leukozyten. Spärliche Auflagerungen, Milz vergröfsert. Vibrionen und Granula nicht zu finden. 1 Öse Exsudat ergibt 2 Kolonien.

Meerschweinchen 301, 175 g. Wird wie 300 geimpft, ohne nachträgliche Exsudatinjektion. Granulabildung nach 1/4 Std. beendet, nach 2 Std. treten bereits reichlich Leukozyten auf, deren Zahl rasch ansteigt, so dafs sich nach 6 Std. zähes, dickes Eiter entnehmen läfst. Bleibt ohne Krankheit.

Meerschweinchen 305, 220 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur aus 297 ip. Nach 1/4 Std. wenige, in Klumpen zusammengeballte Leukozyten; ausschliefslich Granula. Jetzt Jnjektion von 2 ccm Exsudat 303 ip. Leukozyten fehlen bis zu 3 Std. fast ganz und bleiben während der Beobachtungsdauer von 9 Std. äufserst spärlich. Das Tier ist dabei typisch krank und stirbt in der Nacht. Es enthält in der Bauchhöhle ca. 2,5 ccm fast klares, sehr zellarmes Exsudat ohne Vibrionen und Granula Von Auflagerungen findet sich nur ein vom Netz über den Magen zum

1) Berliner klinische Wochenschrift, 1905, Nr. 15.

2) Soweit bisher Versuche vorliegen, scheint das Typhusaggressin noch weniger durch Leukozyten beeinflufst zu werden, so dafs die Vermutung eines Zusammenhanges zwischen Parasitismus und diesen Verhältnissen naheliegt.

Leberrand ziehender fibrinöser Faden mit wenigen grofsen, polynukleären Leukozyten. In der Bauchhöhle ca. 3 ccm klarer, steriler Flüssigkeit. Ausstriche aus dem Peritonealexsudat liefern ziemlich reichliche Kolonien.

Meerschweinchen 306, 225 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf die abzentrifugierten und gewaschenen Vibrionen aus den bei Nr. 305 verwendeten 2 ccm Exsudat 303 ip. Die Einspritzung erfolgt gleichzeitig mit der ersten bei Nr. 305, die verwendete Aufschwemmung der tierischen Vibrionen ist weniger trüb als die der Kulturbazillen. Nach $^1/_4$ Std. ist der Unterschied gegen Nr. 305 ganz auffallend. Es finden sich zwar sehr viele Granula, daneben aber ist etwa $^1/_3$ der Vibrionen gut erhalten, z. T. noch beweglich. Nach 1 Std. sind nur noch wenige, aber auch noch teilweise bewegliche Vibrionen vorhanden, nach 2 Std. sind nur Granula in erstaunlich grofser Menge zu finden und Leukozyten treten in geringer Zahl auf. Sie vermehren sich nicht stark bis zu 9 Std. Granula bleiben mit Ausnahme einer nach 6 Std entnommenen Probe immer zahlreich. Das Tier machte einen schwerkranken Eindruck. Nach 22 Std. war das Exsudat bei andauernder Krankheit des Tieres eitrig, mit grofsen Leukozytenklumpen, geworden. Granula waren ohne Mühe nachzuweisen. Der Tod trat in der Nacht des zweiten Tages ein; es fand sich eine relativ zellarme Flüssigkeit, in welcher Granulaphagozytose und vereinzelte normale Vibrionen nachweisbar waren. Reichliche Auflagerungen mit dem gewöhnlichen Befunde, meist grofsen, polynukleären Leukozyten mit spärlicher Granulaphagozytose. Auch hier einzelne Vibrionen.

Das zum folgenden Versuche mit Nr. 312 und 313 dienende Exsudat ist z. T. mit gewaschenen Leukozyten eines Exsudates von dem ip. mit Aleuronat injizierten Meerschweinchen 311 behandelt. Ihre Menge war nicht sehr grofs, sie blieben $^1/_2$ Std. bei 37° mit dem Exsudat in Berührung und wurden dann abzentrifugiert.

Meerschweinchen 312, 210 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Cholera ip. Nach $^1/_4$ Std. nur Granula. Jetzt wird das mit Zellen behandelte Exsudat 304 eingespritzt. Nach 2 Std. sind eine Anzahl von weifsen Blutkörperchen, die meist verklumpt sind, in der Bauchhöhle vorhanden. Ihre Menge steigt allmählich an, ohne dafs man aber von Eiter während der 8stündigen Beobachtungszeit reden könnte. Erst am nächsten Tage findet sich Eiter. Das Tier wird elend und stirbt in der Nacht des 5. Tages ohne besonderen Befund marastisch.

Meerschweinchen 313, 225 g. Wird wie 312, aber mit unverändertem Exsudate geimpft. Auch hier waren vor der Exsudateinspritzung nur Granula vorhanden, die nach 2 Std. vollständig verschwanden. Leukozyten fanden sich nach 3 Std. in mäfsiger Zahl ein, nahmen dann aber eher ab und blieben jedenfalls während der 8stündigen Beobachtung spärlich. Der Tod trat nachts ein. In der Bauchhöhle fanden sich ca. 4 ccm wenig trüber Flüssigkeit, die aber doch mehr Zellen (kleine, polynukleäre) enthielt, als am Vortage beobachtet waren. Vibrionen und Granula fehlten. Von Auflagerungen war nur ein kleines Flöckchen am Leberrande vorhanden, das grofse, polynukleäre Leukozyten und einzelne Granula enthielt. Milz nicht

vergröfsert. Mäfsiges Hautödem. Kulturen aus Leber und Herzblut blieben steril, Milzausstriche lieferten 1, 1 Öse Exsudat etwa 1000 Kolonien.

Meerschweinchen 313a, 165 g. Wie 312, ohne nachträgliche Exsudateinspritzung. Auch hier sind nach 1/4 Std. nur Granula vorhanden, die rasch (nach 2 Std. fehlen sie ganz) verschwinden. Schon nach 2 Std. zahlreiche Leukozyten, nach 3 Std. eitrig, nach 6 Std. dicker Eiter. Lebt.

Die Zellen für die Behandlung der nachfolgenden Exsudate entstammen der Bauchhöhle eines mit Aleuronat injizierten grofsen Meerschweinchens. Für jedes Exsudat wird die Hälfte der Zellen nach der oben angegebenen Methode verwendet.

Meerschweinchen 316, 200 g. Erhält erst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Cholera, nach 1/4 Std. bei alleiniger Anwesenheit von Körnchen 2 ccm mit Toluol sterilisiertes, mit Zellen behandeltes Exsudat 309 ip. Die Zahl der Leukozyten steigt nicht bis zu 3 Std. Nach 6 Std. vermehren sie sich rasch, nach 9 Std. ist in der Bauchhöhle Eiter. Das Tier erscheint 2 Tage lang krank, erholt sich dann.

Meerschweinchen 317, 200 g. Wie 316 mit unverändertem Exsudate geimpft. Bis 6 Std. bleiben die Leukozyten sehr spärlich, dann tritt allmähliche Zunahme derselben ein, die aber mit der bei 316 nicht zu vergleichen ist. Am andern Morgen ist das Tier sehr hinfällig, enthält aber viel Leukozyten in der Bauchhöhle. Der Tod erfolgt in der Nacht des 2. Tages. Die Sektion ergibt weder flüssiges Exsudat noch Auflagerungen.

Meerschweinchen 318, 205 g. Genau wie 316, mit 1,5 ccm des völlig klar zentrifugierten, aber nicht sterilisierten Exsudates 314. Zellvermehrung tritt nach 5 Std. ein, wird rasch stärker, bis nach 9 Std. Eiter gefunden wird. Auch dieses Tier war sehr hinfällig, erholte sich noch wider Erwarten.

Meerschweinchen 319, 210 g. Genau wie 317, mit Exsudat 314. Die Leukozyten blieben bis zu 5 Std. sehr spärlich, vermehrten sich dann, aber ohne Vergleich weniger als bei 318. Am nächsten Tage lag das Tier kraftlos auf der Seite, lebte aber im ganzen 31 Std. In der Bauchhöhle fanden sich 2 ccm trübes Exsudat mit reichlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten, ohne Granula und Vibrionen. Auflagerungen gering, mit dem gewöhnlichen Befunde und vereinzelten Vibrionen. Kulturen aus Exsudat lieferten 2, aus den Auflagerungen ca. 500 Kolonien. Das Herzblut war steril.

Auf die hohe Bedeutung der die Aggressivität von Bazillen neutralisierenden Eigenschaft der Leukozyten hat bereits Kikuchi nachdrücklich hingewiesen.

Das Hauptziel der Versuche war erreicht, indem nachgewiesen war, dafs alle Exsudate der serienweise geimpften Tiere schon in relativ geringen Mengen aggressiv waren. Immerhin zeigt auch hier das Exsudat 309 im Versuche mit Meerschweinchen 317 sowohl nach der Lebensdauer des Tieres als nach dem

Zellbefunde während des Lebens eine relativ schwächere Wirkung, obwohl das Meerschweinchen 309 bereits dem Ende der Reihe nahestand. Es dürfte sich daher auch bei dieser Versuchsanordnung empfehlen, mit dem gewonnenen Exsudate nicht unter 2,5 ccm herabzugehen.

Die Reihenimpfungen waren in der ausgesprochenen Absicht unternommen worden, den Halbparasiten der Cholera dem parasitischen Zustande zu nähern. Bei der hohen Wichtigkeit, die ein derartiger gelungener Versuch für viele Fragen haben würde, ist eine genaue und strenge Kritik der Reihen unbedingt erforderlich, wobei auch auf die Literatur etwas genauer eingegangen sei.

Es gelang Hueppe[1]) 1887, die Infektiosität der Cholera zu beweisen, indem er durch Anwendung intraperitonealer Impfung schliefslich mit sehr geringer Menge Bouillonkultur Meerschweinchen töten konnte. Er erreichte dies durch Serienimpfungen, die bis zu 10 Tiere umfafste. Dabei war im Peritoneum der Tiere bei erfolgreich fortgesetzten Impfungen stets rein seröses Exsudat vorhanden. Ausführlichere Versuchsprotokolle werden dann angegeben in den Arbeiten von Gruber und Wiener[2]) 1892 und Voges[3]) 1894.

Voges kommt nach Ausführung einer Serie von 10 Tieren zu der Überzeugung, dafs es möglich sei, eine unbegrenzte Reihe von Meerschweinchen durch Exsudatimpfung zu töten, »sobald die injizierte Dosis gröfser ist als die Menge, welche durch die bakteriziden Kräfte des Tieres vernichtet wird.« Dafs es auf die Menge der Vibrionen allein sicher nicht ankommt, wird später an Gruberschen und eigenen Versuchen gezeigt werden. Leider gibt die Tabelle von Voges nichts bestimmtes über die Beschaffenheit des Exsudates an. Es läfst sich aus dem mehrfach angeführten Zusatze »reichliches Exsudat« nur schliefsen, dafs viele seiner Exsudate dünn, nicht eitrig waren. Weiter zeigen seine Versuche, dafs man im Anfange einer Serie mehr Exsudat

1) Berliner klinische Wochenschrift, 1887, Nr. 9 u. 22.

2) Dieses Archiv, Bd. 15, S. 241.

3) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 17, S. 195.

zur erfolgreichen Impfung notwendig hat als später. Denn 0,9 ccm Exsudat des vierten Tieres reichten zur Weiterführung der Serie nicht aus, wohl aber 2 ccm; später waren selbst 0,1 ccm genügend. Die am weitesten ausgedehnten und sorgfältig wiedergegebenen Reihen stellten Gruber und Wiener an, wobei sie zum entgegengesetzten Resultat wie später Voges gelangten, nämlich, dafs es unmöglich sei, »die Krankheit dauernd rein kontagiös, durch Übertragung von Tier zu Tier, fortzupflanzen«; »trotzdem in dem übertragenen Krankheitsprodukte oft massenhafte Vibrionen vorhanden sind« bleibt früher oder später der Erfolg der Übertragung aus.

Dieses Ergebnis, das für die Auffassung der Krankheitserregung von allergröfster Wichtigkeit ist und dem daher auch die genannten Autoren grofse Bedeutung beilegen, konnte durch die eigenen Kontagionsimpfungen durchaus bestätigt werden. Zwar sehen die II. und III. Reihe, ebenso wie die von Voges, auf den ersten Blick so aus, als ob sie eine beliebig lange Fortsetzung zulassen würden, aber eine genauere, unten auszuführende Betrachtung erweckt bereits Bedenken. Dazu kommt aber vor allem, dafs die I. Reihe tatsächlich beim sechsten Tiere abgebrochen ist und dafs einige andere Reihen, genau so wie einige von Gruber und Wiener, schon sehr bald aufhörten.

Meerschweinchen 236, 220 g. Erhält eine ältere Choleraagarkultur ip. Stirbt nach 8—9 Std. und enthält ca. 6 ccm dickes, trübes Exsudat mit vielen kleinen, polynukleären Leukozyten, ohne besonders starke Phagozytose, mit massenhaften, oft spirillenartigen Vibrionen. Leber, Därme etc. überall eitrig belegt, mit dem gewöhnlichen Befunde.

Meerschweinchen 239. Erhält 0,9 ccm frisches Exsudat von 236 ip. Lebt, ohne Krankheit gezeigt zu haben.

Um die Reihe nicht abbrechen zu lassen, erhält

Meerschweinchen 240, 230 g, 4 ccm des über Nacht kalt gestandenen Exsudates 236 ip. Überlebt ohne Krankheit.

Meerschweinchen 243, (Gewicht?). Erhält 2 Ösen Choleraagarkultur aus 236 ip. Stirbt in der Nacht und liefert ca. 9 ccm trübes, nicht sehr dickes Exsudat mit vielen, polynukleären Leukozyten und Granulaphagozytose. Massenhaft Vibrionen, oft in Haufen, verhältnismäfsig wenige, lange Spirillenformen. Wenige Auflagerungen mit dem gewöhnlichen Befunde.

Meerschweinchen 245, (Gewicht?). Erhält 1,75 ccm frisches Exsudat von 243 ip. Lebt.

Meerschweinchen 253, 450 g. Erhält 1 Öse Cholera ip. Stirbt in der Nacht. In der Bauchhöhle findet sich kein eigentliches Exsudat, aber viele eitrige Beläge. Die mit NaCl-Lösung (3 ccm) gewonnene Spülflüssigkeit enthält viel Leukozyten mit starker Phagozytose, aber auch zahlreichen. langen Vibrionen, und wird dem

Meerschweinchen 254 eingespritzt. Das Tier war am Abend schwer krank, am andern Tage erholt. Es erhielt jetzt eine ganze Agarkultur aus 253 ip. Das in der Nacht gestorbene Tier lieferte ca. 16 ccm trübes, mit weichen Eiterflocken erfülltes Exsudat und wies überall Eiterauflagerungen auf. Vibrionen waren typisch, aber nicht zahlreich.

Meerschweinchen 255, 500 g. Erhält 5 ccm frisches Exsudat von 254. Lebt.

Meerschweinchen 256. Erhielt eine ganze Agarkultur aus 254 ip. Stirbt in der Nacht mit dem Bilde schwerster Infektion, eiterfreier Bauchhöhle und ca. 10 ccm Exsudat mit massenhaften Vibrionen.

Meerschweinchen 257. Erhält 5 ccm frisches Exsudat von 256 ip. Stirbt nach ca. 8 Std. und enthält 2 ccm zellreiches Exsudat mit starker Phagozytose, massenhaft Vibrionen, viele lang und meist in Haufen. Viele Auflagerungen.

Meerschweinchen 258. Erhält 2 ccm frisches Exsudat von 257 ip. Ist am nächsten Tage deutlich krank, erholt sich dann aber sehr rasch.

Der unmittelbare Eindruck solcher Versuche erhellt am besten aus der an den Rand des Protokolles von Nr. 258 niedergeschriebenen Bemerkung: »Der Bazillenmenge nach hätte das Tier ganz gut sterben können.« Eine ganz ähnliche Bemerkung machen Gruber und Wiener (a. a. O. S. 487).

Für einen Erklärungsversuch dieser Erscheinungen sind offenbar drei Momente zu berücksichtigen: 1. Menge und Beschaffenheit der verimpften Vibrionen; 2. Menge und Beschaffenheit des gleichzeitig eingeführten Exsudates; 3. Besonderheit des jeweiligen Versuchstieres.

Um alle diese Verhältnisse auch nur annähernd beurteilen zu können, reichen die bisher angestellten Reihenimpfungen weder der Zahl noch der Art der Ausführung nach aus. Es wäre sehr leicht, in der Verschiedenheit des Gewichtes der Versuchstiere z. B. direkte Fehler aufzufinden. Denn dafs ein Meerschweinchen von 200 und ein solches von 500 g ganz verschiedene Tiere sind, ist längst bekannt. Dennoch genügen die Reihen,

um einige wichtige Erscheinungen hervortreten zu lassen. Es zeigt sich vor allem, dafs die Serien dort abbrechen, wo das vorhergehende Tier eitriges Exsudat liefert, wobei das Aufhören der Infektiosität entweder ein unmittelbares ist, oder doch im nächsten Tiere erfolgt. Auch hierin stimmen die Versuche Grubers mit den hier mitgeteilten überein, soweit sich das aus den Protokollen ersehen läfst. So hören die Reihen 1, 2, 8, 8a, 10 mit dem Eitrigwerden des Exsudates auf, Reihe 11, wo das Exsudat mit reichlichem Vibrionengehalt serös bleibt, geht weiter. Für die Reihe 12 schuldigt Gruber selbst die zu geringe Impfmenge als Grund des bevorstehenden Mifserfolges an, vielleicht gilt das gleiche für die Reihen 9 und 13, wo das Exsudat zwar serös bleibt, die Vibrionenzahl aber abnimmt. Nur die kurzen Serien 3 und 7[1]) von Gruber, wo ein seröses Exsudat mit viel Vibrionen und doch negativem Impferfolg verzeichnet sind, lassen sich schwer beurteilen.

Im ganzen aber stimmen die eigenen und die Reihen von Gruber und Wiener darin überein, dafs das Auftreten von Eiter bei einem Tiere der Serie den Impferfolg unsicher macht. Derartige Exsudate können dabei, ebenfalls übereinstimmend mit Gruber und Wiener, so grofse Mengen von Vibrionen enthalten, dafs das Nichteintreten von Krankheit und Tod geradezu wie eine Schutzwirkung aussieht.

Die oben erwähnten Befunde, dafs Leukozyten die Aggressivität einer Flüssigkeit beeinträchtigen oder aufheben, scheinen für eine Erklärung geeignet zu sein. Dort, wo der Vibrio von Leukozyten umgeben ist, verhält er sich bei Hemmung seiner Aggressivität wie ein harmloser Saprophyt. Das mit einem solchen Exsudat geimpfte Tier ist daher fähig, Leukozyten in seine Bauchhöhle treten zu lassen, die ihrerseits an der Beseitigung des etwa neu entstehenden Aggressins sowie des gebildeten Giftes arbeiten und überdies als Phagozyten die Vibrionen selbst zerstören. Es bedarf nicht erst des Hinweises, dafs quantitative Verhältnisse eine grofse Rolle spielen müssen; man braucht in

1) Vgl. dazu a. a. O. S. 286 u. 267.

dieser Hinsicht nur an die Erscheinung zu erinnern, dafs trotz zahlreicher, nach Bouilloneinspritzung lebenskräftig in der Bauchhöhle angesammelter Zellen durch entsprechende Steigerung der Impfmenge erfolgreiche Infektion erzwungen werden kann [1]). Auf diese Weise ist es auch zu erklären, dafs nach Entfernung der Zellen aus einem solchen Exsudate noch erfolgreiche Weiterimpfung möglich ist, wobei freilich auch noch gröfsere Mengen Flüssigkeit verwendet werden sollten. Der einzige bisher angestellte Versuch, einen Unterschied in der Infektiosität eines Exsudats bei Anwesenheit und nach Entfernung der Zellen aufzufinden (Nr. 282 und 283), gelang nicht, wohl deshalb, weil eben die quantitativen Verhältnisse nicht berücksichtigt wurden. Dabei bleibt stets noch zu bedenken, dafs ein Vibrio, der in einer eitrigen Bauchhöhle sich entwickelt, wo er nicht genügend Aggressin bilden kann, auch an sich Veränderungen erfahren dürfte, die ihn dann unfähig machen, bei der nächsten Übertragung sofort wieder in relativ geringer Menge die nötige Aggressivität aufzubringen. Da gleichzeitig das miteingespritzte Exsudat mit sinkender Menge nicht mehr aggressiv ist, so wirkt es eher leukozytenanlockend als abstofsend, und das Ergebnis ist dasselbe wie bei einem Tiere, das z. B. untertödliche Bazillenmengen mit unwirksamem Aggressin erhalten hat und das unter rascher Leukozyteneinwanderung in die Bauchhöhle am Leben bleibt. Sobald also innerhalb einer Reihe ein Tier infolge seines Alters oder seiner individuellen Disposition überhaupt mit Eiter in der Bauchhöhle reagiert, ist das Resultat der ganzen Serie in Frage gestellt, besonders dann, wenn durch Herabgehen mit der Impfmenge sowohl die Zahl der Bazillen wie die Menge des mitverimpften aggressiven Exsudats stetig verkleinert wird. Wird jetzt von einem solchen Tiere aus das nächste z. B. mit der gleichen Gabe infiziert, so erhält es noch weniger Aggressin, überdies

1) Dafs sich unter solchen Verhältnissen selbst ein für andere Tiere wirksames Aggressin gewinnen läfst, ist bereits an anderer Stelle (dieses Archiv, Bd. 52, S. 366) mitgeteilt. Die daselbst ausgesprochene Vermutung, dafs gerade unter solchen Verhältnissen sich besonders wirksame Aggressine gewinnen lassen könnten, hat sich nicht bestätigt.

Zellen, welche das etwa neu entstehende sofort bis zu einem gewissen Grade paralysieren können, und schliefslich auch Vibrionen, die vielleicht gar nicht mehr so aggressiv sind, selbst wenn ihre Zahl die gleiche oder selbst gröfser wie früher wäre.

Damit ist aber auch die Frage, ob es bisher gelungen ist, den Choleravibrio durch fortgesetzten Aufenthalt im Tierkörper zum echten Parasiten zu machen, im wesentlich verneinenden Sinne beantwortet. Gewifs wird es gelingen, eine ununterbrochene Reihe erfolgreicher Tierimpfungen zu erzielen, wenn man stets durch grofse Mengen Exsudats Verhältnisse wie die eben geschilderten vermeidet, was gewifs möglich ist, besonders wenn man z. B. die Zellen eines sonst ungeeignet erscheinenden Exsudats vor der Injektion entfernt. Bei immer absinkender oder dauernd gleichbleibender, aber kleiner Infektionsmenge läfst sich aber nach den bisherigen Ergebnissen, in Übereinstimmung mit Gruber und Wiener, ein schliefsliches Aufhören des Impferfolges sicher vorhersagen. Das heifst aber, dafs es nicht gelungen ist, den Choleravibrio zum echten Parasiten zu machen, der schon in kleinster Zahl unter allen Umständen genug aggressiv wäre, um im Tiere zu wachsen. Ob dies möglich wäre, wenn man vorher den Vibrio lange Zeit als Halbparasit im Tierkörper halten würde, ist nicht ohne den Versuch zu entscheiden, der jedenfalls ganz unverhältnismäfsige Lebensopfer erfordern würde.

Gleichwohl ist nicht zu verkennen, dafs eine gewisse Annäherung an den parasitischen Zustand zu erreichen ist. Hierher gehört auch die von Kikuchi bei entsprechenden Dysenterieversuchen ermittelte Beobachtung, dafs der Keimgehalt der Organe und des Blutes von solchen Serientieren ein ganz auffällig hoher ist, was trotz der Schwierigkeit, diesen Umstand richtig zu ermitteln und zu beurteilen, fast überall in Erscheinung tritt. Gerade der Befund, dafs bei Nr. 314 der III. Reihe der Keimgehalt einiger Organe ganz unvermittelt absinkt, läfst vermuten, dafs bereits eine Störung der Serienimpfung bevorsteht.

Deutet schon die Neigung, den Körper zu durchwuchern, die trotz der Unmöglichkeit zahlenmäfsiger Angaben deutlich

hervortritt, auf eine gewisse Annäherung an den parasitischen Zustand hin, so spricht im gleichen Sinne die Erscheinung, daſs wirksame Immunsera gegen die tödliche Impfung mit Exsudat von Serientieren nur noch mangelhaft schützen, d. h., daſs der Vibrio eine gewisse Unempfindlichkeit gegen bakteriolytische Einflüsse annimmt. Es handelt sich allerdings nur um eine relative Widerstandskraft: nur die kleinen, wenn auch noch immer überschüssigen Serummengen der I. Reihe werden wirkungslos, nicht die gröſseren, die bei der III. Reihe angewendet wurden. Das ist auch deshalb bedeutungsvoll, weil damit festgestellt ist, daſs zwischen der bei tierischen Typhusbakterien jederzeit zu findenden Unempfindlichkeit gegen Immunserum und dem scheinbar entgegengesetzten Verhalten der Choleravibrionen kein grundsätzlicher Unterschied besteht. Es läſst sich mit groſser Wahrscheinlichkeit aussagen, daſs der Typhusbazillus wegen seiner den Parasiten sich nähernden Eigenschaften von vornherein durch einfachen Aufenthalt im Tierkörper Unempfindlichkeit gegen die Bakteriolyse annimmt, während das bei dem noch sehr saprophytischen Choleravibrio erst durch längeres, künstlich erzwungenes Wachstum innerhalb eines lebenden Organismus erreicht wird. Gleichwohl gehen alle diese Eigenschaften verloren, sobald die Vibrionen in ein Tier gelangen, das aus irgend welchen Gründen reichlich Leukozyten an den Infektionsort zu bringen imstande ist. Tiefgehend kann somit die Annäherung an den parasitischen Zustand, dessen unmittelbare Aggressivität von vornherein alle Zellen fernhält, nicht gewesen sein.

Mit dem ziemlich unbestimmten Begriffe der Virulenz ist bei solchen Versuchen wenig anzufangen. Ein aus einer eitrigen Bauchhöhle gezüchteter Choleravibrio hat, wie ebenfalls Gruber und Wiener schon fanden, seine krankmachende Fähigkeit nicht verloren; es könnte sich höchstens um minimale Unterschiede handeln.

Es liegen hier Probleme von groſser, allgemeiner Bedeutung vor. Biologisch die Frage der Anzüchtung und eventuell Vererbung nicht ganz neuer, aber gesteigerter Eigenschaften, für die Pathologie und Hygiene die Frage, ob ein Krankheitserreger bei

andauernder Kontagion seinen Infektionswert durch Übergang vom Halbparasiten zum Parasiten steigern kann. Es liegt wenig daran, wenn die mitgeteilten Versuche nach Art und Vollständigkeit nicht viel zur Entscheidung beitragen: wenn nur gezeigt ist, dafs durch Verwendung des Begriffes der Aggressivität eine neue Behandlungsweise möglich ist. Deshalb sei noch kurz ein Reihenversuch mit Kaninchen (von ca. 1000 g) angeführt, der viel Übereinstimmung mit den früheren zeigt.

Kaninchen 83 erhält 2 Agarkulturen Cholera ipl. Stirbt in der Nacht. In der rechten Brusthöhle ca. 4, in der linken 2,5 ccm trübes, etwas dickes Exsudat. Darin massenhaft Vibrionen, nur kurze Formen, ziemlich schlecht gefärbt. Zahlreiche, polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose, die aber viel weniger Körnchen als normale Vibrionen betrifft. Kleinflockige Auflagerungen auf Pleura und Lunge mit ungefähr dem gleichen Befunde. Kulturen (1 Öse) lieferten aus Milz 2000, Leber 1800, Niere 82, Herzblut 2500 Kolonien.

Kaninchen 84 erhält 6 ccm (gemischtes) Exsudat von 83 ipl. Tod nach 9 Std. In der Brusthöhle nur ca. 1 ccm blutige Flüssigkeit, die fast nur Vibrionen, meist in kleinen Haufen, enthält. In der Bauchhöhle ca. 12 ccm trübes, etwas dickes Exsudat, mit sehr wenig Zellen und massenhaften Vibrionen in derselben Anordnung wie in der Brusthöhle. Milz vergröfsert. Hämorrhagien am Magen und Netze.

Kaninchen 85 erhält 3 ccm frisches Exsudat von 84 ipl. Tod nach 12 Std. In der rechten Brusthöhle ca. 3 ccm trübes, dünnes Exsudat, das fast keine Zellen, aber massenhaft Vibrionen, meist in Haufen, enthält. Keine Auflagerungen; in der linken Brusthöhle und der Bauchhöhle kein Exsudat. Je 1 Öse Milz, Niere, Leber und Herzblut liefern 402, 89, 732 und ca. 5300 Kolonien.

Kaninchen 86 erhält erst 0,05 ccm Serum ›Pfeiffer‹ iv., nach 10 Minuten 1,5 ccm frisches Exsudat 85 ipl. Schon nach 4 Std. deutlich hinfällig, stirbt das Tier nach 7 Std. In der rechten Brusthöhle ca. 5 ccm leicht blutiges Exsudat mit ziemlich vielen polynukleären Zellen [1]); diese zeigen Phagozytose, die aber fast nur normal aussehende Vibrionen betrifft. Massenhaft Vibrionen, fast alle in Haufen, mehrfach schlecht gefärbt, aber ohne Granulabildung. Keine Auflagerungen. Links ca. 3 ccm weit weniger trübe Flüssigkeit mit spärlichen Zellen, vielen, aber nicht so reichlichen Vibrionen wie im anderseitigen Exsudate. Milz vergröfsert. Ausstriche aus beiden Exsudaten der Leber, Milz und dem Herzblute liefern dichte Beläge.

---

1) Die Unterscheidung in grofse und kleine polynukleäre Leukozyten läfst sich beim Kaninchen weit weniger leicht als beim Meerschweinchen durchführen.

Kaninchen 87, geimpft wie 86, ohne Serum. Stirbt in der Nacht, 14 bis 20 Std. Rechts ca. 9 ccm trübes, sehr zellarmes Exsudat mit massenhaften Vibrionen, die sämtlich in Häufchen liegen. Ziemlich viele zarte Auflagerungen, die fast nur aus niedergeschlagenen Vibrionenhaufen bestehen. Links ca. 4 ccm Exsudat von gleicher Beschaffenheit wie rechts. Milz vergröfsert. Von je 1 Öse Niere gehen 2 Kolonien, von Leber und Milz dicht gedrängte Kolonien auf, Herzblut liefert einen zusammenhängenden Belag.

Kaninchen 88 erhält 1,5 ccm frisches Exsudat 87 + 0,01 ccm Serum »Pfeiffer«, beides unmittelbar vor der Einspritzung gemischt, ipl. Ist am nächsten Tage krank und wird nach 3 Tagen verblutet. Es finden sich nur rechts ca. 3 ccm leicht blutiges Exsudat mit zahlreichen Leukozyten, von denen viele typische Granula enthalten. Reichliche, bereits ziemlich trockene Auflagerungen mit dem gleichen Befunde. Kulturen aus Herz, Leber, Exsudat und den Auflagerungen ergeben kein Wachstum.

Kaninchen 89, geimpft wie 88, ohne Serum. Stirbt erst nach 30 Std. und enthält 16 ccm trübes Exsudat mit spärlichen, polynukleären Zellen und massenhaften Vibrionen. Reichliche Auflagerungen, die aber wohl gröfstenteils aus Fibrin bestehen, sehr zellarm sind, hingegen viele Vibrionen enthalten; in den Zellen starke, z. T. Graunlaphagozytose. Milz grofs. Kulturen liefern mit 1 Öse: Exsudat ∞, Milz 0, Leber 1, Niere 0, Herz 123 Kolonien.

Kaninchen 92, 1400 g. Erhält 1,5 ccm Exsudat 89 ipl. Lebt, magert ab. Dann Erholung.

Auch hier tritt das Aufhören der Infektiosität ganz auffallend in Erscheinung; vielleicht ist der Abbruch, der sich übrigens von Kaninchen 87 an bereits leise ankündigt, deshalb so plötzlich erfolgt, weil das letzte Tier 92 etwas gröfser war. Die Unwirksamkeit des Immunserums ist auf dem Gipfel der Infektiosität bei Nr. 86 sehr deutlich, später verschwindet diese Erscheinung bei Verwendung der doppelten Serummenge und gleichzeitiger Einspritzung. Ein Aggressinversuch mit dem Exsudate von Nr. 84 hatte Erfolg.

Kaninchen 90 erhält 3 ccm zentrifugiertes, sterilisiertes Exsudat von 84 + 1 Öse Choleraagarkultur aus 84 ipl. Der Tod erfolgt nach ca. 32 Std. In der rechten Brusthöhle ca. 5 ccm fast zellfreies Exsudat mit massenhaften, in Häufchen wachsenden Vibrionen. Keine Auflagerungen. Links ca. 2 ccm ähnlicher, aber vibrionenärmerer Flüssigkeit. Milz vergröfsert. Kulturen mit 1 Öse aus beiden Exsudaten und dem Herzblut ∞, aus Milz und Leber ca. 3000 Kolonien.

Kaninchen 91 erhält 1 Öse Choleraagarkultur aus 84 in 3 ccm NaCl ipl. Stirbt am Abend des 4. Tages und enthält trübes, zellreiches Exsudat mit starker Phagozytose, spärlichen, aber gut aussehenden Vibrionen. Reichliche Auflagerungen, deren Zellen viele kleine Körnchen (keine typischen Granula) enthalten. Kulturen aus Exsudat gehen üppig auf, sonst war das Tier cholerafrei.

Im ganzen dürfte eine gewisse Übereinstimmung mit den Meerschweinchenreihen nicht zu verkennen sein. Über eine Erklärung der Abweichungen läfst sich kaum etwas sagen.

In Kürze sei noch auf den eigentümlichen Befund bei Meerschweinchen 306 hingewiesen, das gewaschene, tierische Vibrionen eines Serientieres mit Immunserum zusammen erhalten hatte. Die Serummenge war sehr grofs, dennoch tritt die geringere Bakteriolyse deutlich hervor. Höchst auffallend aber ist, dafs sich auch hier, ohne Anwendung von Aggressin und trotz schliefslich vollständiger Granulabildung, die Hyperleukozytose im Peritoneum so sehr verzögert. Solche Befunde, deren Studium fortgesetzt wird, erwecken die Hoffnung auf eine Möglichkeit der Erklärung der Aggressivität.

Im Anfange dieses Jahres berichteten Pfeiffer und Friedberger über Versuche, bei denen es ihnen gelang, mit Hilfe von normalem Serum verschiedener Tiere, das vorher mit Vibrionen behandelt war, nicht nur die Immunserumwirkung zu unterdrücken, sondern auch mit untertödlichen Dosen Meerschweinchen zu töten. Die anscheinend übereinstimmende Wirkung dieser Sera mit Aggressinen besteht bei näherer Betrachtung nicht. Es sei nur darauf hingewiesen, dafs die Versuche mit Meerschweinchenserum nicht gelangen und dafs die Bakteriolyse gehindert wurde, während die bisher vorwiegend benutzten Aggressine gerade Meerschweinchenflüssigkeiten sind und die Bakteriolyse selbst nicht hemmen. Pfeiffer und Friedberger schliefsen aus ihren Versuchen auf die Anwesenheit neuer, hemmender Stoffe im Serum. Eigene Versuche, die in Gemeinschaft mit Dr. Kikuchi angestellt wurden, ergaben ein ganz anderes Resultat bei Wiederholung der wichtigen Experimente der genannten Forscher. Nicht neue Stoffe haben Pfeiffer und Friedberger im Serum entdeckt, wohl aber die Existenz der Bakteriolysine (als Stoffe betrachtet) auf das tiefste erschüttert.

Über anaërobe Mundbakterien und ihre Bedeutung.

I. Mitteilung.

Von

Dr. Antonio Rodella.

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums zu Lodi.

(Mit einer Tafel.)

Das Studium der Bakterien der menschlichen Mundhöhle hat in den letzten Jahren aufserordentlich an Interesse und Bedeutung gewonnen. Der alte Spruch: Prima fit in ore digestio, konnte keine bessere Bestätigung und Illustrierung finden als gerade durch die modernen bakteriologischen Untersuchungsergebnisse. Es mufste sowohl die gärungserregende Eigenschaft der Mundbakterien anerkannt als auch zugegeben werden dafs sie nicht nur in der Mundhöhle sondern auch im Magen und dem übrigen Darmtraktus Gärungsprozesse zu entwickeln vermögen, da der Magensaft nur einen geringen Bruchteil derselben abzutöten imstande ist, so dafs dieses Studium für die menschliche Physiologie und Pathologie von immer gröfserer Wichtigkeit wurde. Die Hygiene hat auch die Bedeutung dieser Forschungen zu schätzen und die gewonnenen Resultate richtig auszunützen gewufst.

Heutzutage kann man sagen, dafs die Mundhygiene für jedes Alter und jeden Stand eine grofse Rolle spielt. Ich betone »für jedes Alter«, da, während früher viele Ärzte den Milchzähnen keine Aufmerksamkeit schenkten, weil sie ja den permanenten Zähnen Platz machen müfsten, man jetzt weifs, dafs, wie

Miller treffend bemerkt, »schlechte Zähne für das Allgemeinbefinden der Kinder ebenso schlechten Einflufs haben wie schlechte permanente Zähne für das allgemeine Wohlbefinden der Erwachsenen«. Aufserdem hat ein schadhafter Zustand des Milchgebisses einen recht nachteiligen Einflufs auf die Entwicklung des Kiefers und der permanenten Zähne. In dieser Beziehung folgert Spiegelberg ganz richtig, dafs »wie der Grofsverbrauch eines Volkes an Seife sprichwörtlich einen Gradmesser für die Kulturstufe und den Wohlstand abgeben soll, man in gleichem Sinne die Sorgfalt in der Mund- und Zahnpflege ihrer Kinder zum Mafsstabe für hohes Verständnis und Können in einer Familie machen könnte«.

Was die Erwachsenen betrifft, so weifs jedermann, welche Wohltat ein gut gepflegter und gesund erhaltener Mund sei. Der Wunsch, die Mundhöhle sauber zu halten, wird beinahe zum Instinkt. Die instinktiven Mafsregeln zur Erhaltung eines gesunden Mundes sind aber nicht hinreichend. Es ist nötig, von den Prozessen, die sich in der Mundhöhle abwickeln, und von der Bedeutung mancher Gärungen etwas nähere Kenntnis zu haben, um letztere in den richtigen Grenzen zu halten, damit sie nicht pathologischer Natur werden. Empirische Kenntnisse sind hier nicht genügend, es mufs vielmehr die Wissenschaft mit ihrer Forschung tätig sein, die Resultate dieser Forschung müssen geordnet und dann aus der systematischen Zusammenstellung aller die bestmöglichen Früchte zur Wohlfahrt der Menschheit abgeleitet werden.

Zweck der vorliegenden Mitteilung[1]) ist nun der, einen neuen Weg für die Forschung zu zeigen, die bis jetzt von zu einseitigen Mitteln Gebrauch gemacht hat. Gestützt auf die neuen Resultate und mit näheren Kenntnissen über die unzähligen Feinde ausgerüstet, die wir in unserer Mundhöhle beherbergen, werden wir leichter imstande sein, Mittel und Wege kennen zu lernen, die zu benützen wären, um die notwendigen prophylaktischen

1) Die hier mitgeteilten Untersuchungen wurden im städtischen bakt. Laboratorium zu Padua vorgenommen.

Mafsnahmen im Interesse des Volkswohles durchzusetzen. Hierbei spielen Schule, Gewerbebetrieb und Heer eine bedeutende Rolle, und in allen hochzivilisierten Ländern sucht man bereits Fachleute für diese drei Kategorien anzustellen. Dieses Beispiel wird auch von den anderen Ländern nachgeahmt werden, wenn dort die Odontotherapie aus dem Empirismus, worin sie gröfstenteils noch liegt, sich zur Wissenschaft aufgeschwungen haben wird.

Zur Erlangung einer exakten Kenntnis von den physiologisch-pathologischen Gärungsprozessen des Darmtraktus und der Mundhöhle sind neue chemisch-physiologische Studien nötig, vor allem aber eine systematische Forschung der lebenden Gärungserreger unter Anwendung einer ganz anderen Technik, als man bis jetzt eingeschlagen hat. Wir kommen somit auf die gleiche Anschauung zurück, die wir vor zwei Jahren in der Zeitschrift für Hygiene in der Sache geäufsert haben. Jede Bestrebung, die der Bewegung für das neue Verfahren Vorschub leistet, scheint mir annehmenswert, mögen auch die gewonnenen Resultate als dürftig und unzulänglich bezeichnet werden können. Aus diesem Grunde erlaube ich mir, auch meine Befunde über die Mundanaërobien mitzuteilen, trotzdem sie unvollkommen sind.

Ich habe meine Untersuchungen auf das Gebiet der Anaërobien beschränkt, um nicht in den Fehler zu verfallen, den Miller offen zugestanden, die späteren Forscher aber dessenungeachtet nicht vermieden haben: »Ich selber sowohl als andere, die sich mit diesem Gegenstand beschäftigt, haben den Fehler begangen, dafs ich den unausführbaren Versuch gemacht habe, sämtliche isolierten Bakterienarten einer Prüfung zu unterziehen, statt mich auf einzelne Arten zu beschränken und dieselben möglichst gründlich nach allen Richtungen hin zu prüfen. Man erzielte meistens nur allgemeine Resultate und die Arbeiten verschiedener Forscher deckten sich anstatt sich zu ergänzen. Es besteht infolgedessen eine Verwirrung in unseren Anschauungen über die Bakterien der Mundhöhle, welche nur mit einem enormen Arbeitsaufwand aufgehellt werden kann.«

Ich habe bereits an anderem Orte angegeben, bei welcher Gelegenheit ich mich der Anaërobenkulturen bedient habe, in

der Hoffnung, diejenigen Mundbakterien zu isolieren, welche bis jetzt als unzüchtbar bezeichnet wurden. Die Notwendigkeit, bei den bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle zur Anaërobiose Zuflucht zu nehmen, wurde übrigens schon 1892 von Miller (wahrscheinlich nur aus Gründen der Methodik) anerkannt. Er sagte in der Tat: »Die bei der Züchtung von streng anaërobiotischen Bakterien angewandten Verfahren (die Anlagen von Kulturen bei Luftabschlufs, in einer Atmosphäre von Wasserstoff etc.) müssen selbstverständlich auch bei den Munduntersuchungen zur Anwendung kommen, obgleich man im Munde a priori eher fakultativ anaërobiotische Mikroorganismen vermuten dürfte als streng anaërobiotische: eine Vermutung, welche mit den Versuchsergebnissen übereinzustimmen scheint.« Diese aprioristischen Vermutungen finden nicht nur in den Untersuchungen Millers eine Bestätigung sondern auch in den vielen Studien, die vom Jahre 1892 bis zu unseren Tagen gemacht wurden: ein weiterer Beweis, welche Kraft eine vorausgefafste Meinung auch auf Resultate experimenteller Untersuchungen ausüben kann. Die menschliche und experimentelle Pathologie hätte indes die Forscher auf den richtigen Pfad führen sollen.

Schon im Jahre 1886 erwähnte Konrad einen Fall von Tod durch Tetanus, verursacht durch Extraktion zweier Zähne. Derartige Fälle haben sich in der Literatur des Gegenstandes in grofser Anzahl angesammelt. Auch in jüngster Zeit hat Dr. Bandisch einen Tetanusfall erwähnt, welcher nach seinem Dafürhalten der Wirkung eines unsauberen Zahnstochers, mit dem der Betreffende in einem Zahn herumzubohren pflegte, zuzuschreiben war. Aber auch abgesehen von solchen Fällen, bei denen ein infiziertes Instrument oder sonst ein Gegenstand als Ursache angenommen werden kann, registriert die Pathologie auch Fälle, die weder Wunden noch äufserem Einflufs zuzuschreiben sind. So erwähnte Marshall einen Fall von emphysematöser Gangräne, die, von einem abszedierten kariösen untern Weisheitszahn ausgehend, nach einem schweren, mit profusem Eiter, Schwellung und Abstofsung von grofsen nekrotischen Massen verbundenen Verlaufe in 12 Tagen tödlich endete.

Obwohl bei diesem Fall keine Erwähnung vom ätiologischen Agens gemacht wird, noch weniger angegeben, ob ein obligat Anaërobium in Frage stand, darf man doch dank der in den letzten Jahren gemachten Untersuchungen über emphysematöse Gangräne annehmen, dafs die Ursache der Gangräne unter den Anaerobien zu suchen war. Noch beweisender ist der von Frosch geschilderte Fall, bei welchem genaue bakteriologische Untersuchungen angestellt wurden, welche zur Entdeckung eines anaërobiotischen Organismus führten. Frosch fand bei der Obduktion eines an Diphtherie gestorbenen Kindes einen Gasabszefs, welcher auch nach der Meinung des Untersuchers den Anaërobien zuzuschreiben war.

Die Tierversuche ergaben auf diesem Gebiete sehr interessante Resultate. So schreibt Miller: »Während meiner Untersuchungen über die Bakterien der gangränösen Zahnpulpa fand ich ein Bakterium, das, Mäusen subkutan beigebracht, sich durch das Hervorrufen eines gangränösen Prozesses auszeichnete. Schon 24 Stunden nach der Infektion war eine erbsengrofse Geschwulst vorhanden, die bei Eröffnung mit zahlreichen Gasblasen vermengten Eiter von höchst üblem Geruch entleerte. Die Infektion liefs sich durch geringe Eitermenge von einem Tier auf ein anderes durch mehrere Generationen umimpfen; den aus solchen Geschwüren gezüchteten Bakterien fehlte die charakteristische Wirkung ganz, so dafs ich daraus schliefsen mufste, dafs die spezifischen Bakterien sich nicht züchten lassen. Dafs man bei fortgesetztem Forschen andere dieser Gruppe angehörige Organismen entdecken wird, bezweifle ich nicht.«

Obwohl von verschiedenen Autoren angenommen wird, dafs auch einige gasbildende Aërobien den Abszefs und die emphysematöse Gangräne hervorrufen können, darf man doch, gestützt auf die neueren Mitteilungen, dafür halten, dafs zur Entstehung dieser Prozesse in der Regel Anaërobien nötig sind. Dagegen ist man nicht einig, welche Arten von Anaërobien diese Erkrankungen verursachen. Ist der Bacillus putrificus Bienstock, der, wie wir später dartun werden, ein steter Bewohner der gangränösen Zahnpulpa ist, auch imstande, einen Gasabszefs hervor-

zurufen? Diese Frage mufs ich bejahen. Ich halte es von Interesse, den folgenden von mir untersuchten Fall mitzuteilen.

Bei Untersuchung eines Eiters, welcher aus einem Gasabszefs stammte, fand ich neben Bacterium Coli und Kokken auch zwei Anaërobien. Das eine war Gelatine nicht verflüssigend, während das andere nicht nur die Gelatine verflüssigte sondern auch imstande war, alle Eiweifsarten (Kasein, Serumeiweifs, Hühnereiweifs) zu zersetzen, und zwar unter Bildung eines üblen Geruches. Ich sprach schon damals die Vermutung aus, dafs von den vielen gefundenen Mikroorganismen dieser letzte Bazillus derjenige gewesen sei, welcher die Gasbildung im Abszefs hervorgerufen hat. Allein ich konnte damals bei kleinen Tieren weder durch Einimpfung des Eiters noch durch Einimpfung der einzelnen Mikroorganismen in Reinkulturen einen Gasabszefs verursachen. In dieser Beziehung versagte auch der zuletzt erwähnte Bazillus vollständig. Mit grofser Verwunderung mufste ich dann von Herrn Dr. Fritz Passini-Wien vernehmen, dafs dieser Bazillus, den er sich von mir erbeten hatte, bei einem Meerschweinchen einen Gasabszefs hervorgerufen habe. Ich ersuchte den Genannten, die Versuche fortzusetzen und mir darüber zu berichten. Er hatte die Freundlichkeit, mir nach Verlauf einiger Zeit mitzuteilen, dafs keine weiteren Gasabszesse mehr zu erzielen gewesen seien. Er schrieb mir aber ferner, dafs das geimpfte Meerschweinchen ein ganz junges Tier gewesen. Wie man auch aus den neueren Studien von Achalme ersehen kann, sind die abweichenden Resultate, die mit diesem Bazillus erhalten wurden, auf das verschiedene Alter zurückzuführen, indem jüngere Tiere das antitriptische Vermögen in geringerem Grade besitzen als ältere Individuen. Dafs es sich bei diesem Bazillus um den fäulniserregenden Buttersäurebazillus (Bacillus putrificus Bienstock) handelte, wurde durch die im Hygiene-Institut Wien von Passini angestellten Untersuchungen aufser Zweifel gesetzt.

Übrigens ist der Bacillus putrificus unter den Mundanaërobien nicht der einzige Vertreter der Gruppe der Buttersäurebazillen, da auch der anaërobe Bacillus butyricus immobilis liquefaciens

sich vorfindet. Es ist also sehr wahrscheinlich, dafs auch die pathogenen Varietäten des letzteren, der gasphlegmone Bazillus und der Rauschbrandbazillus, nicht besonders selten vorhanden sind. Auf alle Fälle ist festgestellt worden, dafs in der kranken Zahnpulpa unter anderen Anaërobienarten Vertreter der Gruppe der anaëroben Buttersäurebazillen anzutreffen sind.

Im Jahre 1892 schrieb Miller: »Eine Bearbeitung und Klassifikation der Bakterien der kranken Zahnpulpa liegt bis jetzt nicht vor.« Dieses Wort hat auch heute noch Geltung und man kann noch hinzufügen, dafs die bis jetzt angewandte Technik keine besseren Resultate gegen damals erzielt hat. Durch dieselbe waren sowohl Miller wie die späteren Forscher zu einem Schlufs gekommen, den die folgenden Worte Millers wiedergeben: »Es kann daher leicht vorkommen, dafs eine verfaulte Pulpa kein einziges entwicklungsfähiges Bakterium mehr enthält. Bei 17 nekrotischen Zahnpulpen, die ich daraufhin untersuchte, fand ich 7 ohne lebende Bakterien.« Miller wiederholte dann seine Versuche und bei 18 Pulpen fand er wieder 3, bei denen ein Wachstum auf Agar-agar nicht zu erzielen war; er erklärte sich diese negativen Resultate damit, dafs (die geschlossene Pulpahöhle vorausgesetzt) der ganze Vorrat von Nährmaterial in der Pulpa bald verbraucht werde und die Bakterien dann wegen Mangels an Nahrung zugrunde gehen oder durch ihre eigenen Produkte abgetötet werden. In welchen Fällen diese Ursache zugetroffen hat, will ich dahingestellt lassen. Ich habe aber, wie schon (in einer vorläufigen Mitteilung) erwähnt, an kranken und verfaulten Pulpen regelmäfsig Anaërobien gefunden, und dafs Miller mit seiner Annahme nicht auf der richtigen Fährte sei, hätte er aus folgenden, von ihm selbst gemachten Erwägungen ableiten können: »Dafs die Zahnpulpa die Bedingungen für Sporenbildung in bester Weise darbietet, wurde schon betont, und da die Sporen eine grofse Widerstandsfähigkeit besitzen, so ist durch diesen Umstand die antiseptische Behandlung von Wurzelkanälen möglicherweise erheblich erschwert.« Miller liefs sich, indem er diese Wahrheit anerkannte, mehr von theoretischer Voraussetzung über Sporenbildung und vom Umstande

der schweren Antisepsis der Wurzelkanäle leiten, ohne dagegen angeben zu können, welches die Sporen seien, die er vermutete.

Durch meine Untersuchungen ist jetzt dargetan worden, dafs diese Sporen gröfstenteils aus Anaërobien der Buttersäurebazillengruppe bestehen. Die Widerstandskraft einiger dieser Sporen ist bekanntlich sehr grofs, ein Umstand, welcher mich zur Annahme veranlassen möchte, dafs auch bei den Untersuchungen von Miller die Pulpen nicht steril waren. Miller hat aber bei seinen Untersuchungen eine interessante Beobachtung gemacht, nämlich dafs die von ihm studierten Pulpen schwarz und übelriechend waren. Wie ich schon andernorts bemerkt habe, ist diese Schwarzfärbung hauptsächlich dem fäulniserregenden Buttersäurebazillus zuzuschreiben, obwohl ich damit nicht ausgeschlossen haben wollte, dafs auch andere Bakterien, wie z. B. der Bacillus fuscans, sowie andere Aërobien und Anaërobien dabei beteiligt sein können. Der üble Geruch der Pulpen kann nicht befremden, wenn man erwägt, dafs es sich hier um einen wahren Fäulnisprozefs handelt, bei welchem bekanntlich übelriechende, meist gasige Produkte, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Methan etc., entstehen. Die Zahnpulpa besteht vorwiegend aus Eiweifssubstanzen, die exquisit fäulnisfähig sind. Bei der Fäulnis dieser Substanzen sind, wie schon von Pasteur angenommen und dann von vielen Forschern dargetan wurde, notwendigerweise Anaërobien tätig. Dieselben entfalten ihre Wirkung sowohl bei Luftabschlufs wie auch bei Luftzutritt. In letzterem Falle ist die Symbiose mit Aërobienbakterien nötig. Im Grunde genommen sind in beiden Fällen die sich bildenden Produkte ungefähr gleich. Wenn aber eine Zahnpulpa im geschlossenen Wurzelkanal fault, so bildet sich eine grofse Menge übelriechenden Gases, so dafs, wenn die Pulpahöhle geöffnet wird, die ganze Umgebung, ja sogar das ganze Zimmer mit Gestank erfüllt wird. Wenn dagegen die Zahnpulpa unter Luftzutritt zum Faulen kommt, dann wird der Geruch nur ein sehr geringer sein, obwohl die Bakterien, welche sich bei diesem Prozefs beteiligt haben, fast die gleichen sind und die von ihnen hervorgerufenen Veränderungen sich kaum unterscheiden lassen. Im

ersteren Falle bilden die Anaërobien, welche fast in Reinkultur sind, reichlichere und stärkere Fäulnisprodukte. Im zweiten Falle werden die von den Anaërobien gebildeten Produkte vom Luftsauerstoff weiter zerlegt und oxydiert und machen sich deshalb weniger bemerkbar. In diesem zweiten Falle, wo die Pulpahöhle weit geöffnet ist, wird vom Munde aus immer neues Material zugeführt. Es bilden sich dann Gärungsprozesse verschiedener Art, nicht nur auf Kosten der Zahnpulpa, sondern auch der Speisereste, welche sozusagen die Pulpahöhle obstruieren. Werden diese in Gärung sich befindenden Speisereste auf Anaërobien untersucht, so findet man deren in grofser Menge. Aus diesem Umstande kann man auch schliefsen, welch schlechten Einflufs diese faulenden Zahnpulpen für die Physiologie der Verdauung haben. Es sind Millionen von kontinuierlich in den Magen gelangenden Mikroorganismen, welche imstande sind, abnorme Gärungsprozesse hervorzurufen.

Die Autoren, welche sich mit den Gärungserregern des Mundes am eingehendsten befafst haben, sind Vignal und Miller. Diese haben die Wirkung von verschiedenen Arten sowohl auf Kohlehydrate wie auf Eiweifssubstanzen untersucht. Bekanntlich hat Miller nachgewiesen, dafs in der Mundhöhle mehrere Bakterien vorkommen, welche die Fähigkeit besitzen, aus Zucker Milchsäure zu bilden. Früher glaubte man, dafs es ein bestimmtes Bakterium gebe, das allein die Milchsäuregärung bewirken könne. Die von Miller betreffs der Milchsäure beobachtete Tatsache wurde nachher nicht nur für diese Gärung sondern auch für verschiedene andere als richtig erwiesen; so z. B. liefert uns die Buttersäuregärung das interessante Beispiel, dafs Mikroorganismen, welche Buttersäure als Hauptprodukt bilden sollten, manchmal dagegen fast ausschliefslich Milchsäure liefern. Was die Buttersäuregärung anbelangt, so findet man gewöhnlich in den meisten Lehrbüchern der Zahnheilkunde, dafs im Munde die Buttersäure sich sehr regelmäfsig bilde. Miller behauptet dagegen, dafs im Munde weder das spezifische Bakterium der Buttersäuregärung existiere, noch Spuren von dieser Säure daselbst nachgewiesen werden könnten. Der anaërobe

Bacillus butyricus wurde trotzdem einmal von Rasmussen in der Mundhöhle nachgewiesen. Da dieser Befund aber später von keinem anderen Autor bestätigt wurde, so nahm man an, dafs im Munde keine Anaërobien vorhanden wären, und dies hauptsächlich aus der Erwägung, dafs der dort zur Wirkung kommende Sauerstoff die Entwicklung anaërober Bazillen verhindert hätte. Auch nachdem durch einige Forscher der Beweis erbracht worden war, dafs Anaërobien in Symbiose mit Aërobien bei Luftzutritt wachsen können, machte die Frage keine Fortschritte. Ob andere Arten der doch ziemlich verbreiteten buttersäurebildenden Bakterien, unter denen bekanntlich auch Aërobien beschrieben wurden, in der Mundhöhle vorkommen und dort ihre Gärwirkung entfalten, ist unbekannt. Die Möglichkeit ist durchaus nicht auszuschliefsen.

Zu der von uns beobachteten Tatsache, dafs sich im Munde regelmäfsig Anaërobien befinden, steht auch ein Experiment im Gegensatz, das von Miller mit Hilfe des Herrn Prof. Kossel gemacht wurde. Miller wollte damit keineswegs die Frage der Möglichkeit des Vorhandenseins anaërober Bakterien lösen, da er ja schon für sicher annahm, dafs solche sich nicht vorfänden, sondern die andere Frage beantworten: »Braucht das Bakterium bei seinen eigentlichen Lebensvorgängen Sauerstoff? Würde es in einem nicht gärungsfähigen Medium Spuren von Sauerstoff nötig haben? Der Versuch wurde folgendermafsen angestellt: »Ein sehr langhalsiges Glaskölbchen, welches am unteren Teile des Halses ein Thermometer trug, wurde mit 100 ccm einer infizierten Fleischextrakt-Zucker-Lösung gefüllt, der Hals in einen rechten Winkel umgebogen und mittels eines sehr dickwandigen Gummischlauches mit der Luftpumpe in Verbindung gesetzt. Um den Schlauch sicher luftdicht zu machen, wurde er mit Lack überzogen. Es wurde jetzt so viel Luft aus dem Kölbchen gesaugt, dafs die Lösung bei etwa 37,5° C. kochte. Das Kochen wurde eine halbe Stunde fortgesetzt, wonach der Schlauch zugequetscht, unter Quecksilber von der Luftpumpe getrennt und der Apparat unter normaler Temperatur in den Brutofen gestellt wurde.

Nach 48 Stunden war keine Spur von Säurebildung noch von Trübung wahrzunehmen, während die Kontrollösung schon nach 8 Stunden in heftige Gärung geriet.

Es wurde nun Luftzutritt gestattet, aber trotzdem fand selbst nach ferneren 48 Stunden keine Entwicklung von Säure statt. Die Bakterien waren zugrunde gegangen. Leider läfst sich die Frage hiedurch doch noch nicht entscheiden, da es möglich, obwohl nicht wahrscheinlich ist, dafs die Bakterien durch die Kochwirkung getötet wurden.«

So befremdend dieses Resultat auch sein mag, für das man keine plausible Erklärung finden kann, so ist heutzutage von vielen Forschern, wie Nencki, Lackewicz, Beijerinck und Kabrehl, mit gröfster Sicherheit nachgewiesen worden, dafs Anaërobien auch dort sich entwickeln können, wo der Sauerstoff auch mit den empfindlichsten Reagenzien nicht nachgewiesen werden kann, wo z. B. Ferroferrecyanüre und reduziertes Hämoglobin unverändert bleibt, wo reduziertes Indigoblau und Methylenblau (sogar bei Anwesenheit des Reduktionsmittels in Überschufs) keine Spur von Reoxydation erkennen läfst, wo endlich obligat aërobe Mikroben nach wenig Zellteilungen zugrunde gehen. Somit ist die von Miller aufgeworfene Frage beantwortet, da im Munde immer Anaërobien vorhanden sind und dieselben auch ohne Spur von Sauerstoff leben können.

Die Mehrzahl der Mundbakterien, sowohl Aërobien wie Anaërobien, vergären die Kohlehydrate; sie sind nicht nur die Ursache der Milchsäure- und Buttersäuregärung, sondern haben auch eine invertierende und diastatische Wirkung. Diese Eigenschaften sind den Aërobien und Anaërobien gemeinsam; eine beinahe ausschliefsliche Wirkung üben aber die letzteren hinsichtlich der Zersetzung der Eiweifssubstanzen aus. Hier ist das eigentliche Arbeitsfeld dieser Lebewesen, welche also als die wichtigsten Mikroorganismen der Pulpenerkrankungen anzusehen sind. Während die Aërobienbakterien allein nicht imstande wären, eine vollständige Vernichtung der Zahnpulpa hervorzurufen, tun die Anaërobienbakterien nicht nur das, sondern zerstören auch die übrigen Komponenten der Zähne.

Welches sind nun die wichtigsten Anaërobien, welche diesen Zerstörungsprozeſs herbeiführen? Es sind Fäulnisanaërobien, die von Achalme unter die gemeinschaftliche Bezeichnung von Anaërobien triptobutyrici gefaſst worden sind. Die Fäulnis wurde übrigens schon im Jahre 1756 von Pfaff als Ursache der Zahnkaries angesehen. »Speisereste,« erklärt er, »welche zwischen den Zähnen in Fäulnis übergehen, geben zur Fäulnis der Zähne Veranlassung.« Auch heutzutage wird die Zahnkaries von vielen Zahnfäule genannt und als ein wahrer Fäulnisprozeſs betrachtet.

Die Gegner dieser Theorie und hauptsächlich Miller glauben dieselbe mit der Einwendung zu widerlegen, daſs ein Zahn auſserhalb der Mundhöhle nie faule. Dies ist aber nicht der Fall, da unter entsprechenden Bedingungen Zähne auch auſserhalb des Mundes verfaulen, wie wir im folgenden sehen werden.

Die anaëroben Mundbakterien.

Bevor ich von den Wirkungen, welche die anaëroben Bakterien sowohl auf die Zähne wie auch auf die Bestandteile der Mundhöhle ausüben, spreche, halte ich es für zweckmäſsig, über einige der am häufigsten im Munde vorkommenden anaëroben Arten zu berichten, wie auch die Technik anzuführen, die ich bei meinen Untersuchungen zur Anwendung gebracht habe.

a) Der Mund wurde mit 20 ccm sterilen Wassers gespült. Von dieser Ausspülung wurden 4 ccm in Grubersche Röhrchen getan, die eine 2proz. Lösung von kohlensaurem Kalk und einige Eiereiweiſswürfel (im Autoklav sterilisiert!) enthielten. — Nach dieser Methode wurden zehn Versuche gemacht.

b) Mit einem Platinspatel wurde von in ziemlich gutem Zustande befindlichen Zähnen und aus den Zwischenräumen derselben möglichst viel Material abgekratzt und in alkalische (5proz. Natronlauge) Lösung gut verteilt. Von dieser Flüssigkeit wurden sodann 5 ccm in Grubersche Röhrchen mit sterilisiertem Eiereiweiſs gebracht. Die Zahl der Versuche belief sich auch hier auf zehn.

c) Anstatt der alkalischen Natronlaugelösung wurde in zehn weiteren Versuchen eine Mischung von 2% kohlensaurem Kalk, 2% Natronlauge und 1% Traubenzucker und an Stelle des Eiereiweifses Rinderblutserum verwendet.

Bei diesen Versuchen wurde häufig, und zwar bei den letzteren schon nach 4—6stündigem Aufenthalt bei 37°, deutliche Gasbildung wahrgenommen, die manchmal 6—8 Tage andauerte.

Beim Schütteln des Röhrchens entwickelten sich auch, nach 4—6monatlichem Aufenthalt im Brutschrank, aus dem Boden zahlreiche kleine Luftblasen. Diese Erscheinung liefs sich indes nicht in allen Fällen beobachten.

Die Veränderungen, welche das Eiereiweifs erlitten hatte, waren sehr verschieden. Einigemal hatte das Eiereiweifs nach mehrwöchigem Stehen im Brutschrank ein gallertartiges Aussehen. Dasselbe Röhrchen, noch weitere 2—3 Monate bei 22° aufbewahrt, zeigte das Eiweifs vollständig verflüssigt. Das Gerinnsel war von weifsgelber Farbe und wies spärlichen staubigen Bodensatz auf. In den Fällen, wo sich der Bacillus putrificus sehr üppig entwickelt hatte, war dieser Bodensatz schön schwarz.

Noch verschiedenartiger war das Aussehen der Röhrchen mit Rinderblutserum, das in den Gruberschen Röhrchen sowohl in Würfeln als in toto zur Gerinnung kam. Interessant war die Tatsache, dafs in zwei Fällen die kleinen Würfel von Blutserum, nachdem die Röhrchen 4 Wochen lang im Brutschrank aufbewahrt worden waren, an verschiedenen Stellen kleine schwarze Punkte zeigten, die mit der Zeit stecknadelkopfgrofs wurden. In der Folge trat die Verflüssigung des Serums ein, die in keinem Falle ausblieb.

Was den Geruch der Kulturen betrifft, so war derselbe nicht immer ein schlechter. Bemerkenswert scheint es mir, dafs die Kulturen, bei welchen das Eiereiweifs bzw. das Serum vollständig verflüssigt war und wie eine klare Flüssigkeit aussah, wider mein Erwarten einen schwachen süfsen Geruch aufwiesen, der gar nichts Widerwärtiges hatte. Es wickeln sich wahrscheinlich auch hier in vitro dieselben Prozesse ab wie in Abfalls-

gruben usw. Im allgemeinen waren aber meine Kulturen mit sehr üblem Geruch behaftet.

Die Kulturen in den Gruberschen Röhrchen wurden, wie bereits erwähnt, nach einem Zeitraum von 1—12 Monaten geöffnet; die meisten wurden jedoch im zweiten oder dritten Monat untersucht. Vor der Verpflanzung in andere anaërobische Substrate stellte ich mikroskopische Präparate her, die regelmäfsig das Vorhandensein von dicken, plumpen Bazillen, von Formen mit zentralen Sporen oder solchen in Trommelschlägergestalt, von isolierten Sporen in grofser Menge, von einigen nicht genau gekennzeichneten bazillaren Formen und überdies von isolierten, zu zweien oder kettenförmig angeordneten Kokken dartaten. Bisweilen zeigten sich ferner in geradezu bedeutender Anzahl dünne, schlanke Bazillen mit zugespitztem Ende und einer gewissen Verdickung in der Mitte. Auch hinsichtlich ihres Verhaltens gegen die Anilinfarben riefen diese Bazillen den Eindruck der Ähnlichkeit mit den unter dem Namen »bacilles fusiformes« bekannten hervor. Wir werden später darauf zurückkommen.

Mittels der Pasteurisierung des Materials konnte ich jedesmal die Bazillen der Buttersäuregruppe isolieren. Ich will hier vor allem die Arten beschreiben, die für unsere Untersuchung von gröfserem Interesse sind.

Bacillus putrificus (Bienstock). Dieser Bazillus findet sich in Unmenge im schlecht gereinigten Munde, in den Zwischenräumen der mit Zahnstein überzogenen Zähne sowie in den Speiseresten, die sich in den Winkeln der Mundhöhle festsetzen. Bei der Pulpitis, insbesondere der chronischen, scheint er gleichsam allein das Feld zu beherrschen, das er mit unzähligen kleinen runden Sporen bedeckt. Bei der einfachen Karies findet er sich ebenfalls verhältnismäfsig reichlich vor und erreicht hier seine längste, eine beinahe fadenförmige Gestalt, während sich bei der chronischen Karies mit tiefgehender Gewebezerstörung auch die kleinen Formen ziemlich häufig beobachten lassen. Plumpe, keulenartige Formen (»Trommelschlägerformen«) oder solche von Clostridium dagegen zeigen sich in Menge in Präparaten von chronischer Pulpitis, die aber nicht zu weit zurückdatieren darf.

Die Vielgestaltigkeit dieses Mikroorganismus veranlafst uns zu einer etwas eingehenderen Schilderung desselben, um ihn in den verschiedenen Erscheinungen, unter denen er sich in den histologischen Präparaten darbietet, erkennen zu können.

Der Bacillus putrificus ist meistenteils ein Stäbchen von 5—8 μ Länge, 0,6—0,8 μ Breite und abgerundeten Enden, der sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben und der Gramschen Methode gut färbt. Er hat eine sehr starke Neigung zur Sporenbildung, doch sind seine Sporen nicht immer einander gleich, noch auch in jedem Fall mit Rücksicht auf den Bazillus gleichmäfsig angeordnet. Bisweilen findet sich die Spore an einem Ende des Bazillus in einer Weise, die ihm ein dem Tetanusbazillus ziemlich ähnliches Aussehen verleiht. Die Spore ist aber im allgemeinen eiförmig anstatt rund, wie sie beim Bazillus von Nicolaier beschrieben wird. Diese Endspore färbt sich in einzelnen Fällen ganz leicht, in toto, und zwar intensiv, mit den gewöhnlichen Anilinfarben ohne irgendwelches besonderes Verfahren. Es genügt, 1/2 Minute lang beispielsweise Fuchsin Ziehl kalt auf dem Präparat zu belassen, um eine prächtige Färbung der Sporen zu erzielen. In anderen Fällen dagegen läfst sich trotz gleichen Vorgehens nur eine Färbung des äufseren Hofes wahrnehmen, auch ist es häufig vorgekommen, dafs die Spore vollständig ungefärbt blieb und sich am Ende des Stäbchens als runder, stark lichtbrechender Punkt zeigte.

Die Spore befindet sich jedoch nicht immer am Ende, sie kann ihren Platz auch in der Mitte des Stäbchens haben, das dann eine gewisse Schwellung aufweist, ohne aber das Aussehen eines wahren und eigentlichen Clostridiums anzunehmen. Dieser Umstand war bereits von Bienstock beobachtet worden. Während aber Tissier in seiner Beschreibung des Bacillus putrificus hievon keine Erwähnung tut, scheut sich Gottlieb Salus nicht vor der Annahme, Bienstock habe mit unreinen Kulturen operiert, da ihm selbst diese abweichende Anordnung der Spore am Bazillus nie vorgekommen sei.

Die vom Bacillus putrificus herrührenden freien Sporen sind geradezu in Unmasse anzutreffen und es ist bemerkenswert, dafs

sie bisweilen eine verschwindend kleine und vollkommen runde Gestalt aufweisen. Der Bacillus putrificus von jungen Kulturen besitzt in der Flüssigkeit Eigenbewegung; hat er seine tetanusähnliche Gestalt, so strebt er mit der Spore vorwärts.

In albuminarmen Böden ist er mehr gewunden, wie auch gefaltet und faserig.

Es ist nunmehr allgemein anerkannt, dafs der Bacillus putrificus ein strenges Anaërobium ist, das sowohl bei Zimmertemperatur wie bei 37° gut zur Entwicklung kommt. Es ist indes angezeigt, zu bemerken, dafs dasselbe hinsichtlich der Temperatur zu den weniger anspruchsvollen Bakterien zählt, da sich auch noch bei 44° ein ziemlich gutes Wachstum erzielen läfst, und dafs anderseits seine Anforderungen für Anaërobiose nicht so hoch sind wie bei anderen Anaërobien.

Die hervorragendsten kulturellen Merkmale ergeben sich aus folgenden Kulturen:

Agarstich. — Das Wachstum erfolgt binnen 2—4 Tagen flötenbürstenförmig. Die einzelnen Kolonien sind am Rande des dicken Stiches an ihrem watteähnlichen Aussehen zu erkennen.

Diese Kultur gibt bereits ein gutes Unterscheidungsmerkmal gegenüber anderen Kulturen, die als Putrificusarten gelten. Mein Anaërobion III, das nach Tissiers Ansicht der Putrificus Bienstock sein soll, bildet in der Stichkultur die Figur eines Tannenbaumes; die längsten Aste desselben können sich bis zu den Wänden des Röhrchens erstrecken.

Wenn im flüssig geimpften und nachher erstarrten Agar nur einige Kolonien zur Entwicklung kommen, so können sie die Gröfse einer Erbse erreichen und die schönen geschlängelten Ausläufer sind dann bei ihnen am besten zu erkennen.

Agarstrich. — Die Kultur zeigt ein farnkrautähnliches Aussehen.

Gelatinestich. — In Gelatine erscheinen die Kolonien wie Haarwuchs. Das Material wird allmählich weich und verflüssigt sich binnen 5—6 Tagen. Das watteähnliche Aussehen der Kolonien tritt indes nicht immer zutage. Manchmal zeigen sich

die Kolonien als dunkle Punkte, die von trüben runden Höfen verflüssigter Gelatine umgeben sind. Diese Erscheinung tritt hauptsächlich bei gut peptonisierenden Stämmen auf, wo infolge der raschen Verflüssigung keine Bildung von Ausläufern stattfindet.

Ein gutes Unterscheidungsmerkmal für den Bazillus putrificus ist ferner die schwarze Färbung, welche in dem von Passini vorgeschlagenen Eiereiweifsnährboden sehr deutlich hervortritt.

Ist der Bacillus putrificus für die gewöhnlichen Laboratoriumstiere pathogen oder nicht?

Bienstock, Tissier, Schattenfroh und Grasberger u. a. geben an, dafs er nicht pathogen sei. Ich fand indes wiederholt, sowohl bei meinen früheren Untersuchungen über Darmanaërobien wie bei den vorliegenden, Putrificusarten, die eine gewisse Pathogenität aufwiesen. Eine Putrificusart vermochte, in Quantitäten von 3 ccm Meerschweinchen unter die Haut eingeimpft, den Tod dieser Tiere hervorzurufen. Weiter oben habe ich einen Fall von Gasabszefs angeführt, für den ich einen Bacillus putrificus verantwortlich machen konnte. Derselbe war, wie dort erwähnt, bei meinen Untersuchungen wirkungslos geblieben, hat aber bei einem von Passini geimpften Meerschweinchen einen Gasabszefs zur Folge gehabt.

Auf die grofsen Schwankungen in der Virulenz der Anaërobien macht übrigens schon Achalme aufmerksam, welcher schreibt:

»Weist das beobachtete Mikrobium eine sich nahezu gleichbleibende Virulenz auf, so hat man in der pathogenen Wirkung, mag ihr Wert auch noch so relativ sein, einen wertvollen Stützpunkt. Wenn dagegen die Virulenz gleich Null oder schwankend ist, wie man dies vielfach in bedeutendem Mafse, und zwar unter schwer definierbaren Umständen, wahrnehmen kann, so mufs die pathogene Wirkung notwendigerweise an die zweite Stelle zurücktreten.«

Aufser diesen Pathogenitätsschwankungen, die den meisten Mikroorganismen eigen sind, kommt für den in Rede stehenden

Bazillus auch noch die Tatsache in Betracht, dafs seine morphologischen und biologischen Eigenschaften ebenfalls grofsen Änderungen unterliegen. Ich konnte mich bei meinen Untersuchungen über die Anaërobien des Darms, der Milch und der Mundhöhle tatsächlich überzeugen, dafs, während einige Putrificusarten das Eiweifs rasch und intensiv aufbrauchen, andere hinwiederum dasselbe nur wenig und langsam verändern. Es scheint mir daher, dafs wir unter der Bezeichnung Bacillus putrificus Bienstock heutzutage nicht mehr eine einzige Art, sondern eine ganze Familie mit vielen Varietäten (darunter auch einige pathogene) zu verstehen haben.

Die gleiche Verbreitung wie der Bacillus putrificus Bienstock hat in der menschlichen Mundhöhle der unbewegliche Buttersäurebazillus (von Schattenfroh und Grasberger Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens genannt).

Wir haben es hier mit dem Trait-d'union zwischen den zwei äufsersten Vertretern der Gruppe der anaëroben Buttersäurebazillen zu tun, wovon einige Varietäten nur ganz geringe Fähigkeit besitzen, die Gelatine zu peptonisieren, während andere mit starkem Vermögen zur Zerlegung der Eiweifssubstanzen ausgestattet sind, so dafs sie in dieser Hinsicht mit dem Bacillus putrificus Bienstock verwechselt werden können. Sie unterscheiden sich jedoch hievon durch die verhältnismäfsig schwierige Sporenbildung, die sich dagegen beim Bacillus putrificus mit gröfster Leichtigkeit einstellt. Auch die Gestalt der Sporen wie deren Gröfse leistet zur differentiellen Diagnose gute Dienste. Einzelne morphologische Kennzeichen, wie seine Unbeweglichkeit usw., erleichtern diese Aufgabe.

Agarstrich. — Im Rasen entwickelt sich eine weifsliche Schicht, mehr oder weniger dick je nach der Masse des Säematerials. Die isolierten Kolonien weisen einen runden oder länglichrunden Mittelpunkt auf, während die Umgebung dieses mittleren Teils granuliert erscheint.

Agarstich. — Gleichmäfsig dicker oder leicht höckerig begrenzter Faden, manchmal von Gasblasen durchsetzt.

Gelatinestich. — Nach 2—6 Tagen weifser Faden oder eine kleine Kette von ebenso unregelmäfsigen rundlichen Punkten, welche bei weiterem Wachstum die Gelatine trichterförmig verflüssigen.

Kartoffelscheiben. — Auf Kartoffeln bildet der Bazillus einen kaum sichtbaren Rasen. Bei manchen Varietäten sind einige Kolonien kuppenförmig erhaben, was auch bei vielen Putrificusstämmen beobachtet wird.

Sporenbildung. — Die freien Sporen sind oval, bis 2,0 μ breit und bis 2,3 μ lang. Ihre Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen ist eine aufserordentlich hohe.

Eine weitere interessante Varietät, welche häufig von der Mundhöhle beherbergt wird und die ich mit dem von Tissier und Martelly unter dem Namen Bacillus bifermentans sporogenes beschriebenen Mikroorganismus, der wegen der Gestalt seiner Sporen charakteristisch ist, identifizieren zu dürfen glaubte, ist die folgende.

Der Bazillus hat eine Länge von 6—8 μ, eine Breite von ungefähr 1 μ und ist vielfach in Ketten von mehreren Individuen angeordnet. Er bildet sehr rasch Sporen, die sich von denen der zwei vorhergehenden Arten durch ihre ellipsoide Gestalt unterscheiden. Ich konnte aus dem Munde tatsächlich Bazillen isolieren, die in zuckerfreien Böden in der Mitte des Bazillus längliche Sporen von bisweilen 3—3,5 μ Länge bildeten. Wenn ich bei Vornahme der für die Sporen spezifischen Färbung den Grund mit Methylenblau färbte, so wies die Spore im Mittelpunkte des Bazillus roten Schleim auf; der Bazillus selbst lief fast gar nicht blau an.

Morphologisch und kulturell hat dieser Bazillus eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Bacillus putrificus. Die Kolonien werden indes nie fadenförmig, strahlenförmig oder watteähnlich wie beim Bacillus putrificus. Sie sind kompakt und linsenförmig. Die Gasbildung ist nicht reichlicher als beim Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens und tritt erst spät auf. Die Verflüssigung der Gelatine geht langsam vor sich. Dieser Bazillus greift Kasein, Serum- und Eiereiweifs an, jedoch nicht in so

hohem Maſse wie der Bacillus putrificus. Meine mangelhaften Kenntnisse in der Chemie und in den chemischen Untersuchungsmethoden erlauben mir nicht, von einer sicheren Identifizierung dieses im Munde häufig vorkommenden Mikroorganismus mit dem Bacillus bifermentans sporogenes zu sprechen. Ich kann nur mit Bestimmtheit angeben, daſs der Bazillus aus Glykose Buttersäure bildet.

Während diese drei Saprophyten als regelmäſsige Bewohner der Mundhöhle anzusehen sind, ist ein anderer Vertreter der Buttersäuregruppe seltener anzutreffen, muſs aber wegen seiner groſsen pathologischen Bedeutung wohl in Betracht gezogen werden. In drei Fällen von lakunärer Angina konnte ich mittels Tierversuch den typischen gasphlegmonen Bazillus isolieren. Ich will diesen Befund nicht gerade mit der Ätiologie der Angina, die übrigens einen gutartigen Verlauf nahm, in Zusammenhang bringen. Es scheinen mir aber diese Fälle schon deshalb von Bedeutung, weil wir mit der näheren Kenntnis der anaëroben Mundflora die Entstehungsursache mancher infektiösen Prozesse mit unbekanntem Eintrittsort des pathogenen Erregers besser erklären werden.

Ich unterlasse hier eine Beschreibung des gasphlegmonen Bazillus, da sich eine solche im schönen Werk von Schattenfroh und Grasberger findet, die auf meine drei Stämme genau paſst. Ich konnte mich überzeugen, daſs der gasphlegmone Bazillus, auf den von Passini vorgeschlagenen Nährboden übergeimpft, tatsächlich ein sporenbildender Mikroorganismus ist.

Weniger Glück hatte ich bei meinen Untersuchungen mit dem Nachweis des Tetanusbazillus im Munde. Sämtliche Versuche fielen negativ aus; trotzdem halte ich für sicher, daſs auch dieser Mikroorganismus häufig in der Mundhöhle haust.

Es sind in der Literatur genügend Fälle von echtem Tetanus bekannt, bei denen der spezifische Bazillus sich nicht nachweisen lieſs, und nicht minder kennt man die Schwierigkeiten, welchen der Bakteriologe hauptsächlich begegnet, wenn es sich um eine Mischinfektion von Tetanus mit anderen anaëroben Mikroorganismen handelt. Auf alle Fälle gebe ich diese interessante Auf-

gabe noch nicht auf und hoffe, im Laufe meiner diesbezüglichen Untersuchungen für die oben ausgesprochene Vermutung den Beweis liefern zu können.

Die eben beschriebene Bakteriengruppe hat überaus grofse Bedeutung für die Zahnkaries wegen der Bildung von Säuren wie auch von Diastasen, so z. B. der Trypsin, die eine vollständige Zerstörung des Zahnes herbeizuführen vermag, wie ich mich bei meinen Untersuchungen über künstliche Zahnkaries auf das festeste überzeugen konnte. Dagegen ist die Bedeutung der genannten Bakterien für gewisse Formen von Angina noch von niemand zum Gegenstand des Studiums gemacht worden, ja, soviel ich weifs, hat noch kein Forscher ihr Vorkommen in ähnlichen krankhaften Zuständen überhaupt erwähnt. Während meiner Tätigkeit als Assistent am Hygiene-Institut Zürich fand ich diese Köpfchenformen wiederholt in direkten Präparaten in ansehnlicher Menge vor; da mir aber damals das Studium der klinischen Fälle nicht möglich war, so beschränkte ich mich auf die Angabe, ob das Ergebnis der Untersuchung in bezug auf den Diphtheritisbazillus ein positives oder negatives gewesen war.

Dagegen hatte ich bei meinen Untersuchungen in Padua Gelegenheit, auch den Kranken zu sehen, und nicht selten hob ich das Material selbst ab. Ich zählte nun über acht Fälle von akuter Pharyngitis, bei denen ich unter dem Mikroskop eine Unmenge von Köpfchenbakterienformen beobachten konnte. Ich erwähne hiervon noch besonders den folgenden ausgezeichneten Fall: Der Feuerwehrmann Albertini Carlo erschien beim hiesigen Amt mit einer ausgesprochenen Form von Angina, von der vornehmlich die beiden Mandeln betroffen waren. Die Rötung derselben sowie des ganzen Pharynx hatte einen hohen Grad erreicht; aufserdem liefs sich besonders an den Mandeln ein schmutziggraues Exsudat wahrnehmen.

Einige mit diesem Exsudat hergestellte mikroskopische Präparate gaben, mit Gentianaviolett gefärbt, die charakteristischen Formen der Köpfchenbakterien in erheblicher Anzahl und fast in Reinkulturen zu erkennen. Die Endspore war bei einzelnen Bazillen vollständig violett, bei andern wies nur der sie um-

gebende Hof die violette Färbung auf, während das übrige vollständig entfärbt war. Bei andern Bazillen wieder ergab sich eine entfärbte lichtbrechende ovale Spore am dünnen, gut gefärbten Bazillus hängend, ferner lagen viele von diesen Sporen, vom Bazillus abgetrennt, da und dort im Präparat zerstreut. Bemerkenswert ist die Tatsache, dafs die mit jenem Material im Serum angelegten aërobischen Kulturen keinerlei Entwicklung aufwiesen. Die anaërobischen Kulturen dagegen förderten den Bacillus putrificus zutage. Was den klinischen Verlauf betrifft, so war derselbe ein äufserst gutartiger. Bei täglich zweimal vorgenommenen Überpinselungen mit Quecksilbersublimat zu 1 ‰ war die Angina in 3 Tagen gänzlich verschwunden.

Wie ist es nun möglich, dafs diese Anaërobien bei Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffes existieren? Die Symbiose mit aërobischen Mikroorganismen reicht in solchen Fällen noch nicht allein zur Erklärung der Tatsache hin, umsoweniger als beim angeführten Falle, auch wenn man eine Reinkultur von Anaërobien nicht als gegeben erachten will, immer nur das Vorkommen von wenigen Aërobien vorausgesetzt werden darf, da die zwei Kulturen in aërobischem Serum steril blieben. Man mufs sich vielmehr zur Annahme verstehen, dafs sich in den kranken Geweben besondere Substanzen entwickeln, die anaërobische Keime auch bei Luftzutritt am Leben zu erhalten vermögen, wie wir das gleiche bei Kulturen mittels entsprechender chemischer Substanzen zu erzielen in der Lage sind.

Das über die Anaërobien der Buttersäure Gesagte trifft auch auf die spindelförmigen Bazillen von Vincent zu, die, wie ich sofort ausführen werde, streng anaërobisch sind und die in einer so grofsen, die anderen Mikroorganismen derart überwiegenden Menge auftreten können, dafs viele Autoren, darunter Plaut[1]), sie als wahre und tatsächliche Reinkultur angesehen haben.

[1]) Es klingt fast paradox: »Reinkultur aus der Mundhöhle — und doch kommen solche Fälle, freilich recht selten, vor. Bei einer Form von Angina, die ich, nicht Bernheim oder Vincent, wie häufig zitiert, zuerst 1894 beschrieben habe, fand ich in einem Falle auf vielen Kulturmedien

Man mufs demnach zugeben, dafs bei einzelnen pathologischen Zuständen (Angina, Stomatitis, Noma) infolge uns noch unbekannter biochemischer Prozesse eine Veränderung der Gewebe Platz greift, die das Fortkommen der gewöhnlichen Aërobien auf denselben schwierig gestaltet, während sie das der Anaërobien ermöglicht und sogar begünstigt. Unter den letzteren mufs noch einer Gruppe von Bazillen Erwähnung getan werden, die wegen ihrer häufigen Beteiligung bei verschiedenen Krankheitsformen und der grofsen Schwierigkeit, die sie ihrem Studium in Reinkulturen entgegenstellt, in letzter Zeit die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt hat.

Der bekannteste Vertreter dieser Gruppe führt gemeinhin den Namen Bacillus fusiformis von Vincent, weil dieser Autor es ist, den wir die meisten Abhandlungen über dieselbe verdanken, wenngleich Miller die Priorität zufällt, ihn als gewöhnlichen Gast der Mundhöhle beschrieben zu haben. Die Literatur über diesen Mikroorganismus ist in der Folge derart angeschwollen, dafs Beitzke in seiner zusammenfassenden Übersicht in der Lage war, nicht weniger als 113 Autoren anzuführen. Aufserdem sind mir noch die Arbeiten von weiteren 50 (deutschen, französischen und italienischen) Autoren bekannt, die von Beitzke nicht eingereiht werden konnten. Ich halte jedoch für sicher, dafs viele von diesen Forschern Mikroorganismen in Händen hatten, die vom echten spindelförmigen Bazillus gemäfs der J. Seitz-Vincentschen Auffassung abwichen, und dafs unter

---

beim Ausstich keinen einzigen Mikroorganismus entwickelt, weil die Pseudomembran nur Spirochäten und sog. Millersche Bazillen enthielt, die sich auf unseren gebräuchlichen Nährmedien nicht züchten lassen.« Also Plaut! Wenn sich auch bei mir einigemal der Fall ereignete, dafs sich unter dem Mikroskop in einem oder in zwei Präparaten nur eine einzige Art von Mikroorganismen beobachten liefs, so konnte ich mich doch leicht vergewissern, dafs es sich auch in diesen Fällen nicht um eine wirkliche Reinkultur handelte. Wir haben es bisweilen tatsächlich mit einer Vereinigung von verschiedenen Anaërobienarten zu tun, die als solche auf unseren gewöhnlichen Nährmedien nicht wachsen; häufiger jedoch handelt es sich um Symbiose von Aërobien mit Anaërobien, die in den Geweben schichtweise angeordnet sind, infolgedessen ein Befund, der sich nur auf die obersten Partien erstreckt, nur eine einzige Spezies zutage fördert.

dem bequemen Vorwand, der Bazillus habe sich noch nicht isolieren lassen, gar oft Mundanaërobien jedem Typ zugerechnet wurden, einzig und allein deshalb, weil auch diese sich auf unseren gewöhnlichen Nährböden (unter diesen wurden stets die aërobischen verstanden) nicht züchten lassen.

Im Jahre 1901 hatte sich Vincent in seiner Arbeit: »Sur la culture et l'inoculation du bacille fusiforme« neuerdings mit seinen Bazillen beschäftigt. Er erprobte eine Anzahl von Nährböden und kam zum Schlusse, dafs die reichlichsten Kulturen sich mit der aus einer chronischen rheumatischen Hydrartrose gewonnenen Flüssigkeit erzielen liefsen. Nach Vincents eigenem Ausdruck jedoch »la culture du bacille fusiforme à l'état pur n'a pas été jusqu'ici réalisée«.

Matzenauer, der die beiden Krankheitsprozesse von Noma und Hospitalbrand ganz richtig miteinander in klinische und ätiologische Verbindung gebracht hatte, behauptete hinwiederum, das spezifische Agens derselben in Reinkultur gewonnen und es anaërobisch in Agar mit hoher Schicht gezüchtet zu haben. Trotzdem haben wir keinen Anlafs, bei den tüchtigen Arbeiten Matzenauers lange zu verweilen, da im Widerspruch zu der Überzeugung des Autors von der Identität seines Bazillus mit dem von Vincent, wie Beitzke mit Recht bemerkt, alles zur Annahme drängt, dafs ein ganz verschiedenes Anaërobium in Frage gestanden habe.

Das gleiche ist meiner Ansicht nach von dem von Veillon und Zuber beschriebenen Bazillus zu halten, wenn auch Beitzke hierin die einzige Angabe einer Reinkultur von spindelförmigen Bazillen erblickt.

Wie jene beiden französischen Autoren berichten, wächst ihr Bacillus fusiformis in strenger Anaërobiose, und zwar bei Zimmertemperatur langsam, rasch dagegen im Thermostat.

In der Gelatine entwickeln sich kleine körnige dunkle Kolonien mit gut ausgeprägtem, glattem Rande. Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

Im Agar lassen sich bereits nach 24 Stunden kleine Kolonien beobachten, die hernach dunkel, undurchsichtig werden und mit

der Zeit eine gewisse Gröfse erreichen können. Die meisten weisen linsenförmige Gestalt auf.

Im schiefen Agar wachsen sie wie Bacterium coli, doch sind sie mehr transparent.

Bouillon wird rasch und stark getrübt; es zeigt sich ein dicker, weifslicher Bodensatz sowie übelriechendes Gas.

Sporenbildung wird nicht beobachtet.

Die Kulturen sind sehr hinfällig und halten sich nur 5 bis 6 Tage lebensfähig; etwas widerstandsfähiger sind die bei Zimmertemperatur gezüchteten.

Die von Veillon und Zuber gegebene Beschreibung des in Frage stehenden Bazillus entspricht in sehr vielen Punkten der meines im Gasabszefs ermittelten Bazillus II.

Der Umstand, dafs beim Bazillus der beiden französischen Autoren die Sporenbildung ausblieb, während der meine sporenbildend war, dürfte kein unüberwindliches Hindernis bilden, da wir wissen, wie schwankend das Auftreten der Sporenbildung ist und wie viele verschiedene Faktoren es beeinflussen.

Wie aus der meiner Arbeit angefügten Tafel ersichtlich ist, hatte auch mein Bazillus II mikroskopisoh grofse Ähnlichkeit mit dem spindelförmigen Bazillus von Vincent-Seitz, während der weitere Befund eine ausgesprochene Verschiedenheit ergab.

Im Jahre 1903 veröffentlichte Lewkowicz Ksawcry eine Arbeit, worin er anführt, es sei ihm die Reinzucht des Spindelbazillus mittels anaërobischer Kulturen in gezuckertem Agar unter Hinzufügung von Serummaterial gelungen und dafs er ohne Beifügung des letzteren in keinem Nährboden zur Entwicklung komme.

Leider kenne ich die genannte Arbeit nur aus dem kurzen Referat des Bull. Ann. Pasteur vom 30. Dezember 1903, und es ist überaus schwer, auf Grund desselben ein Urteil zu fällen.

Im allgemeinen darf ich sagen, dafs in der Literatur der Spindelbazillus erwähnt wird, wenn er in mehr oder weniger evidentem Zusammenhang mit den pathologischen Prozessen gebracht werden kann.

Der Ansicht der meisten Autoren, dafs der Spindelbazillus das ätiologische Agens von Krankheitsformen, auch wenig verwandter, sei, war J. Seitz bereits im Jahre 1899 mit der Erklärung entgegengetreten, dafs eine bestimmte Beziehung dieses Gebildes mit einer besonderen Krankheitsgruppe, aufser etwa zu Mundgestank, nicht hervorgetreten sei.

Die allzuengen Begriffe hinsichtlich des Charakters der pathogenen Mikroorganismen, wie sie übrigens auch heutzutage noch bei vielen herrschen, haben es nicht zugelassen, dafs seine Versicherung gewürdigt und geziemend interpretiert wurde. Die scharfe Beobachtungsgabe dieses Forschers hatte aber bereits ein wichtiges Merkmal aufgestellt, um den in Frage stehenden Mikroorganismus von anderen, die man in der Folge mit ihm zusammenwerfen wollte, unterscheiden zu können, nämlich die Gestankbildung.

Aufser als fast beständiger Bewohner unseres Mundes wurde der spindelförmige Bazillus häufig in ziemlich vielen Krankheitsformen verschiedenster Art angetroffen, und nun einmal die Aufmerksamkeit auf ihn gelenkt ist, mehren sich die Fälle seines Vorkommens ins Unermefsliche. Er zählt daher wie der Bacillus putrificus Bienstock und andere Fäulnisanaërobien zu den gewöhnlichsten Saprophyten, nur mit dem einzigen Unterschiede, dafs der Bacillus fusiformis infolge seiner wenig ausgeprägten Färbung (in den Geweben z. B. ist der Nachweis desselben beinahe unmöglich, insbesondere wenn er sich in Begleitschaft von vielen anderen Keimen befindet) sich leicht unserer Nachforschung entzieht.

Seine morphologischen Eigentümlichkeiten sind zu bekannt, um angeführt zu werden. Den am meisten strittigen Punkt dürfte die Bewegungsfähigkeit bilden. Einige Autoren schreiben ihm Eigenbewegung zu, ich für meinen Teil habe ihn unbeweglich gefunden.

Geringere Bedeutung hat die Kontroverse bezüglich seiner Färbefähigkeit nach Gram. Ähnliche Fälle sind für eine Reihe von aërobischen und anaërobischen Bazillen bekannt. Um das auf den vorliegenden Fall passendste Beispiel anzuführen, sei nur auf den Bacillus bifidus von Tissier verwiesen. Tissier hat unter Anwendung der Methode Gram-Escherich in derselben Bifidus-Kultur neben violetten auch rote Formen angetroffen.

Bei mir hat sich der Bacillus fusiformis immer nach Gram entfärbt. Die Autoren, welche angeben, dafs er sich nach dieser Methode nicht abfärbt, fügen indes hinzu, dafs er sich nach dem Verfahren von Claudius entfärbt, was ein Beweis dafür ist, dafs seine Widerstandskraft beim Abgeben der Farbe jedenfalls sehr gering ist.

Leider weist der Bacillus fusiformis auch in Reinkultur einen so grofsen Formenreichtum auf, dafs eine Identifizierung durch die Prüfung seiner morphologischen Eigentümlichkeiten nicht leicht wird. Ferner gibt es sicher auch noch andere Arten, die morphologisch mit dem Bacillus fusiformis ein Ganzes bilden, bei eingehender kultureller und biologischer Untersuchung aber von ihm geschieden werden müssen.

Schon Vincent hatte auf die Veränderlichkeit seines Bazillus aufmerksam gemacht, indem er angab, dafs derselbe sich in der nach der Formel von Martin bereiteten Bouillon vermehre, aber möglicherweise darin unerkenntlich werde; er entwickle sich nämlich zu langen, geradlinigen Fäden, bisweilen von riesiger Ausdehnung. Aus der Bouillon von Martin in die flüssigen organischen Böden versetzt, nehme er den Umfang und das spindelförmige Aussehen an, womit er im Mandelexsudat der Kranken ausgestattet ist.

Ich kann noch hinzufügen, dafs dieser Bazillus sich manchmal mit sehr kurzer Gestalt, ohne Verdickung in der Mitte wie auch ohne zugespitzte Enden vorfindet, sodafs man zur Annahme verführt werden könnte, es handle sich nicht um den Spindelbazillus, während dies trotzdem der Fall ist.

Anderseits beherbergt der Mund auch noch Anaërobien, deren Studium ich noch nicht abgeschlossen habe und die unter dem Mikroskop die gleiche Vielgestaltigkeit wie der Bacillus fusiformis aufweisen, von dem sie übrigens alle die verschiedenen Formen zeigen.[1]) Bei der kulturellen Untersuchung lassen sich jedoch

1) Es sei hier besonders hervorgehoben, dafs häufig die anaëroben Mundbakterien in den nach Passini oder Achalme hergestellten Kulturen kein mikroskopisches Wachstum erkennen lassen. Impft man nun von genannten Kulturen im flüssigen Agar ein dann erfolgt nach 3—4 Tagen bei 37° ein ziemlich üppiges Wachstum in der Tiefe der Gläser. In Bouillon (anaërobe) ist dagegen das Wachstum mikroskopisch nicht sichtbar.

Unterschiede beobachten, in der Verflüssigung des Blutserums oder darin bestehend, dafs einige Varietäten in Gelatine bei Zimmertemperatur zur Entwicklung kommen.

Wie schon an anderem Orte erwähnt, gedeiht der Bacillus fusiformis am besten in flüssigen Nährmedien, wo er die Eigenschaft hat, grofse, watteähnliche Flocken zu bilden, die im Reagenzglase teils zu Boden sinken teils an dessen Wänden haften bleiben. Die Flüssigkeit wird unter Ansammlung eines wenig kompakten Bodensatzes nach einigen Tagen klar. Ascites- und Serumbouillon wie auch die Bouillon nach Martin eignen sich für die Kultur dieses Bazillus gut. Er kann auch in einfacher Bouillon zum Wachstum kommen; viel schwieriger gestaltet es sich in Pferde- oder in Zuckerbouillon. Interessant ist die Tatsache, dafs, während in einfacher Bouillon Gasbildung auftritt, dieselbe unterbleibt, falls der Bazillus in Zuckerbouillon zur spärlichen Entwicklung kommt (üppig wächst er in diesem Nährboden überhaupt nicht).

In einem Substrat, bestehend aus kleinen Würfeln von geronnenem, sterilisiertem Rinderblutserum, mit sterilem Wasser hergestellt, wächst der Bazillus unter Erzeugung eines unangenehmen Geruches.

Die Kolonien auf erstarrtem Blutserum (in Gruberschen Röhrchen 8 Tage lang auf 75° sterilisiert!) zeigen ein filzig-verzweigtes Aussehen. Verflüssigung des Serums wird nicht beobachtet. Die Kultur ist ziemlich übelriechend. Die Gröfse der einzelnen Kolonien übertrifft auch in den günstigsten Fällen nie diejenige eines kleinen Stecknadelkopfes. Auf der Oberfläche von Ascites-Agar wachsen streptokokkenähnliche Kolonien. Auf gewöhnlichem Agar ist das Wachstum ein äufserst spärliches und geschieht nicht jedesmal. Es scheinen besondere, mir unbekannte Bedingungen nötig zu sein, um auf diesem Nährboden eine Entwicklung zu ermöglichen.

In tiefem Agar kann es bei reichlicher Aussaat zu üppigem Wachstum kommen, welches dadurch gefördert wird, dafs man den gewöhnlichen Nähragar durch Hinzufügung von etwas Bouillon weich macht. Es kommt hier, wie in den flüssigen,

ungezuckerten Nährmedien, zu starker Gasbildung. Der Bacillus fusiformis wächst nur unter streng anaëroben Verhältnissen und nur bei Bruttemperatur. Es haben demnach die Autoren, welche ihn auch bei Zimmertemperatur und in gewöhnlicher Nährgelatine gezüchtet haben wollen, sicherlich einen anderen Mikroorganismus in Händen gehabt.

Wenn die Züchtung dieses Mikroorganismus aus dem Belag von einigen Angina-Formen, aus Abszessen etc. herrührend, kurz mittels eines Materials, wo er reichlich und fast in Reinkultur vorhanden ist, sich leicht durchführen läfst, so darf man dasselbe nicht für die physiologischen Fälle annehmen, auch wenn der Mikroorganismus in grofser Zahl vorhanden sein sollte, wie dies manchmal am Zahnbelag gesunder Personen der Fall ist. Die unmittelbare Verwendung von festen Nährböden würde uns hier bei einer Isolierung des Spindelbazillus unbedingt im Stich lassen, wir müssen vielmehr zu einem Anreicherungsverfahren in flüssigen Nährböden unsere Zuflucht nehmen und von diesen auf die festen übergehen. Aber auch mit diesem Behelf wird der Zweck nicht immer erreicht, die Mifserfolge sind sogar sehr häufig.

Im allgemeinen kann man sagen, dafs, wenn das direkte mikroskopische Präparat die eben erwähnten Formen in vorwiegender oder wenigstens in gleicher Menge wie z. B. Kokken aufweist, eine Isolierung mit Hoffnung auf Erfolg unternommen werden könne. Bei den erstmaligen derartigen Versuchen ist eine Selbsttäuschung sehr leicht möglich, da die Kokken klein, die Spindelbazillen aber grofs sind und deshalb auf dem mikroskopischen Felde jene zu überwiegen scheinen. Die sich daraus leicht ergebenden Mifserfolge werden aber dazu führen, mehr die tatsächliche Anzahl der Mikroorganismen der verschiedenen Arten ins Auge zu fassen als deren Gröfse. In den Fällen, wo die Spindelbazillen gegenüber den übrigen Keimen nicht wirklich die Überzahl aufweisen, ist es geraten, auf den Versuch zu verzichten, der doch keinen Erfolg zeitigen würde. Auch in den günstigsten Fällen wird es angezeigt sein, aufser den von mir bereits angegebenen Methoden auch noch zu den sauren Böden ($^1/_2$ % Essigsäure) Zuflucht zu nehmen; diese leisten besonders

dort gute Dienste, wo eine Verunreinigung von Mikroorganismen, die nicht zu den Kokken gehören, vorliegt. Der Widerstand dieser zwei Mikroorganismenformen gegen Essigsäure ist nämlich stärker als der der übrigen Bakterien, wie z. B. des Bacterium coli, während er hinter dem der gewöhnlichen Kokken zurückbleibt.

Ein anderes Gebilde, dessen Isolierung und Studium mit noch gröfseren Schwierigkeiten als beim Spindelbazillus von Vincent verknüpft ist, tritt uns in der Zahnspirokäte entgegen. Miller schreibt darüber:

»Spirochaete denticola, Spirochaete dentium, Zahnspirokäte wird nicht im kariösen Zahnbein, sondern an denselben Stellen gefunden wie Spirillum sputigenum, nämlich unter dem Zahnfleischrande, wo das Zahnfleisch schmutzig belegt und leicht entzündet ist, also bei Gingivitis marginalis. Das Bakterium stellt 8—25 μ lange Schrauben von sehr ungleichen Windungen und ungleicher Dicke dar, auch zeigen die Schrauben grofse Differenzen in ihrer Affinität für Farbstoffe. Die dickeren nehmen meist den Farbstoff viel schneller auf als die dünneren, sie haben auch weniger und höhere Windungen. Es ist fraglich, ob es sich hier nicht um zwei verschiedene Mikroorganismen handelt, von welchen der dickere möglicherweise einen Entwicklungszustand von Spirillum sputigenum darstellt. Die Entwicklung und Pathogenese der Spirochaete dentium ist ebenso unbekannt wie die der anderen oben besprochenen nicht züchtbaren Mundbakterien. Auch über die Lebensbedingungen und Lebensäufserungen (Gärung, pathogene Wirkung etc.) wissen wir Näheres so gut wie gar nicht.«

Es ist bekannt, dafs nach Miller von Vincent auf die Spirokäten aufmerksam gemacht wurde, und zwar nicht wegen der Gingivitis marginalis, sondern wegen eines anderen krankhaften Prozesses.

Vincent beschrieb eine Form von Angina, welche er als die der Spindelbazillen bezeichnete und von der er in der Folge zwei Gruppen unterschied, nämlich die pseudodifterica und ulceromembranosa. Bei der ersteren weist die etwas geschwürige Schleimhaut eine kompakte Pseudomembran auf, die einige Tage bestehen bleibt. Das Fiber dauert 3 Tage und die submaxillaren

Drüsen sind geschwollen. Bei der Angina ulcero-membranosa jedoch bildet sich am dritten Krankheitstage ein mehr oder minder tiefes, mit einer Pseudomembran überzogenes Geschwür. Die Dauer dieser Form, die ebenfalls von Fieber und Schlingbeschwerden begleitet ist, wäre nach Vincent eine etwas längere als bei der Angina pseudodifterica, sie schwanke zwischen 8 Tagen und 2 Monaten.

Mikroskopisch wäre die Angina pseudodifterica durch fast ausschliefsliches Vorkommen von 8—12 μ langen, manchmal ziemlich krummen, spindelförmigen Bazillen charakterisiert. Bei der Angina ulcero-membranosa fänden sich aufser den obengenannten Bazillen auch noch der Zahnspiroкäte vollkommen ähnliche Spirillen.

In der Folge wäre die Spirochaete dentium wie auch der Spindelbazillus in den verschiedensten Krankheitsprozessen, wie Geschwüren, Bauchfellentzündungen usw., angetroffen werden.

Was nun die Behauptung von Miller betrifft, dafs die Zahnspirokäte nicht im kariösen Zahnbein gefunden werde, so mufs ich dieselbe als zum mindesten sehr gewagt betrachten. Die tatsächliche Schwierigkeit des Nachweises von Spirokäten im kariösen Gewebe hat ihren Grund in der geringen Empfänglichkeit für die gewöhnlichen Anilinfarben seitens dieser Mikroorganismen wie auch in der Leichtigkeit, womit er die einmal angenommene Farbe abgibt. Trotzdem habe ich Gelegenheit gehabt, bei genauer Beobachtung meiner zahlreichen Präparate von kariösen Zähnen manchmal auch im kariösen Zahnbein die schönsten Spirokäten, entweder beinahe entfärbt oder mit noch gut erhaltener Färbung, wahrzunehmen.

Während uns die Reinkultur des Spindelbazillus gelungen ist, ist uns bis zur Stunde eine Reinzucht der Spirokäte nicht geglückt. Das erfolgreichste Kulturverfahren bestand im übrigen in der Verpflanzung des Mikroorganismus aus dem ihn in Menge enthaltenden Material in anaërobisches Serum-Kondenswasser Letzteres erhielten wir durch Sterilisierung der Proben von geneigtem Serum, das in Gruber sche Röhrchen gebracht und zu

gleichen Teilen mit Wasser versetzt wurde. Auch die Ascites-Bouillon ergab gute Resultate.

Bemerkenswert ist, dafs der Spindelbazillus dann und wann ein dieser Spirokäte ganz und gar ähnliches Aussehen annimmt. In einer unserer nächsten Veröffentlichungen, worin wir uns mit weiteren Anaërobien des Mundes befassen werden, hoffen wir auch von ihr eine genaue Beschreibung liefern zu können.

Natürliche Zahnkaries.

Beim Studium dieses Prozesses wie übrigens bei allen Teilen meiner Arbeit diente mir als Führer das meisterhafte Werk von Miller. Als Material benützte ich eben ausgezogene kariöse Zähne, die mir vom Zuchthause, von der Poliklinik und von einem befreundeten Kollegen, der hier als Zahnarzt praktiziert, geliefert wurden. Die Zähne wurden in wässerigen Lösungen von 9% Salpetersäure, die man ein paar Wochen einwirken liefs, wiederholt entkalkt. Nach stattgehabter Entkalkung wurden dieselben 10 Stunden lang in fliefsendem Wasser gelassen, damit jede Spur von Säure entfernt würde. Nachher wurden sie in die verschieden titrierten Alkohollösungen (mit 55 proz. Alkohol angefangen) hineingetan. Bei späteren Versuchen verfuhr ich in folgender bequemeren Weise: Es wurde eine 3proz. Lösung von Salpetersäure in 70proz. Alkohol verwendet und darin der Zahn einige Wochen gelassen. Hierauf wurden die Zähne in 96proz. Alkohol gebracht, welcher so oft erneuert wurde, bis das Lackmuspapier sich nicht mehr rot färbte. Gute Dienste leistete mir auch die ½—1proz. wässerige Lösung von Salzsäure. Da aber die Salzsäure die Grundsubstanz der Zähne anschwellt, so ist es empfehlenswert, die von Ebner angegebene Formel zu verwerten, bei welcher das Kochsalz die Anschwellung des Gewebes verhindert. Die Ebnersche Lösung wird folgendermafsen hergestellt: Eine kalt gesättigte Kochsalzlösung wird mit 2 Volumen Wasser verdünnt, worauf 20% Salzsäure hinzugefügt wird. Diese Flüssigkeit entkalkt sehr langsam und mufs häufig erneuert werden. Nach der Entkalkung müssen die Zähne in einer ge-

sättigten Kochsalzlösung, welche zur Hälfte mit Wasser verdünnt wird, gewaschen werden. Um die vollständige Neutralisierung des Zahngewebes zu erzielen, werden der Kochsalzlösung zweckmäfsig einige Tropfen Ammoniak hinzugefügt. Miller sagt von diesem Verfahren: »Solche Präparate haben den grofsen Nachteil, dafs man nicht imstande ist, an ihnen das kariös erweichte von dem künstlich erweichten Zahnbein genau zu unterscheiden; auch vermag man nicht genau festzustellen, welche Veränderungen des Zahnbeins etwa durch die künstliche Entkalkung hervorgerufen worden sind.«

Millers Bemerkung ist richtig; ich beabsichtigte indes, mich bei dieser ersten Veröffentlichung nur mit den verschiedenen Bakterienarten zu beschäftigen, die zur Entstehung der Karies beitragen, wie auch mich ein wenig über die Verbreitung der Bakterien im Gewebe zu orientieren, und deshalb hatten die Veränderungen, welche das Zahngewebe aufweist, für mich geringeres Interesse.

Gewöhnlich stellt man Präparate von Zahnbein in der Weise her, dafs man ziemlich dicke, das erweichte und normale Gewebe umfassende Schliffe anlegt, die dann in verdünnter Säure entkalkt und mit dem Mikrotom in mikroskopisch dünne Schnitte zerlegt werden. Wie gesagt, habe ich statt dessen die Zähne in toto in der oben angegebenen Weise entkalkt, entwässert und dann in Xylol 10—20 Stunden gelassen; hierauf wurden sie in der üblichen Weise paraffiniert und fast immer in horizontaler Richtung zerschnitten. Die ganze Schnittfläche war aber nicht leicht zu gewinnen, und ich mufste mich oft mit einem Teile derselben begnügen.

Was die Färbung des Gewebes betrifft, so gibt Miller an, dafs nach seiner Erfahrung das Pikrokarmin resp. Pikrolithionkarmin sich am besten eignet. Da mich hauptsächlich die Bakterienfärbung interessierte, habe ich zu den basischen Anilinfarben und vornehmlich zum Gentianaviolett Zuflucht genommen. Sehr gute Resultate lieferte mir auch die von Miller empfohlene Gramsche Methode, ebenso das Karbolsäurethionin. Effektvolle

Präparate (Fig. 1 und 6) erhielt ich durch die folgende Noggerathsche Mischung:

Methylenblau	2	g
Gentianaviolett.	4	»
Methylgrün	1	»
Krisoidin	4	»
Fuchsin	3	»
Destilliertes Wasser	200	»

Dafs es übrigens schwer hält, über Färbungsmethoden einig zu werden, bewies mir die Tatsache, dafs ich mit dem von Miller angegebenen Färbungsverfahren keine guten Präparate erzielen konnte. Miller schreibt: »Eine auffallend schöne Doppelfärbung erhält man, wenn man die mit Fuchsin gefärbten Schnitte auf einige Minuten in eine Vesuvinlösung bringt, sie dann mit Wasser abspült, auf einige Minuten in Alkohol legt, dann in Nelkenöl aufhellt und sie in Kanadabalsam einlegt. Die Bakterien zeigen sich rot, das Zahnbein gelbbraun.« Nach meinen Erfahrungen war dieses Verfahren das am wenigsten erfolgreiche.

Was die herkömmliche Einteilung der Zahnkaries in die Karies des Schmelzoberhäutchens, die des Schmelzes und die des Zahnbeins anbelangt, so hat dieselbe für das Studium der verschiedenen Bakterien, welche bei der Karies tätig sind, weniger Bedeutung. Sie hätte Wert, falls wir es mit sehr akuter Karies zu tun hätten, wo beim schnellen Verlauf die Bakterien nicht zum Verfall kommen und deshalb mangels Degenerationsformen einem genaueren Studium unterzogen werden können. Das dürfte indes höchst selten vorkommen und in der Regel wird man es immer auch mit Degenerationsformen zu tun haben, die auch bei genauen Untersuchungen, wie die von Miller waren, Täuschungen hervorrufen können.

Wie ich in meinen Präparaten sehen konnte, ist bei kariösen Zähnen das Schmelzoberhäutchen in eine solche Anhäufung von Bakterien umgewandelt, dafs Wedels Ausdruck »matrix von Leptotrix bucalis«, womit er das Schmelzoberhäutchen belegt,

insofern den Nagel auf den Kopf trifft, als er die beständige Wucherung von Leptotrix schildert. Von einem genetischen Zusammenhang zwischen Schmelzoberhäutchen und Bakterium kann natürlich heutzutage nicht die Rede sein.

Miller schrieb: »In den letzten Stadien der Karies sehen wir nur eine aus Bakterien (Kokken, Stäbchen und Fäden) zusammengesetzte Membran, welche durch den Rest des Häutchens zusammengehalten wird.« Man darf sich jedoch nicht täuschen lassen, da wegen der schlechten Färbbarkeit der Leptotrix- und Streptotrixfäden in diesem Stadium der Karies es leicht vorkommen kann, dafs die einzelnen Fäden wie aus Kokken, Bazillen und kleineren Fäden zusammengesetzt erscheinen (wie z. B. in den Abbildungen 1, 2, 4, 5).

Was den Schmelz angeht, so ist es bekannt, dafs die Bakterien auf den normalen Schmelz keine direkte Wirkung auszuüben imstande sind und dafs, wie Miller richtig bemerkte, nachdem der Schmelz einmal von der Karies durchbohrt ist, die weitere Zerstörung desselben hauptsächlich von der inneren Fläche vor sich geht. Die äufsere Fläche des Schmelzes hat keine Anlage, von den Bakterien angegriffen zu werden. Die Dissolution des Schmelzes ist eine indirekte und auf die chemische Leistung der Bakterien zurückzuführen. Der Schmelz hat jedoch für die Möglichkeit der Entstehung der Karies eine ausschlaggebende Bedeutung und mag die Erklärung geben, warum mechanische Einflüsse, welche das Verschwinden eines Teils des Schmelzes zur Folge haben, auch zur Karies führen. Der Schmelz und seine Beschaffenheit kann auch die Erklärung geben, warum manche Zähne leichter von der Karies befallen werden als andere.

Die Karies des Zahnbeins ist in so trefflicher Weise von Miller studiert und beschrieben worden, dafs ich nur diejenigen Punkte erwähnen möchte, die von Millers Untersuchungen in irgend einer Beziehung abweichen oder dieselben ergänzen. Vor allem beschreibt Miller das Vorschreiten der Bakterienmassen im Zahngewebe und als eine sehr seltene Eigentümlichkeit desselben führt er einen Fall an, wo die Bakterien in einer Art vordringen, die sich am besten mit dem Marsch einer Armee in ein

feindliches Gebiet vergleichen läfst. In der von Miller gegebenen Abbildung sehen wir zwei durch Zwischenräume getrennte, von Bazillen gebildete Bogen, welche konzentrisch ein am äufseren Zahnrande befindliches Nest von Mikroorganismen umspannen. Miller gibt an, dafs es ihm nicht möglich war, für diese Erscheinung eine Erklärung zu finden. Ich habe einen Fall studiert, den ich abbilden liefs, wobei das Eindringen der Bakterien ins Gewebe sich mit einem hämorhagischen Niereninfarkt vergleichen liefs. Ich legte mir dabei die Frage vor, ob die von Miller beobachtete Erscheinung nicht etwa dadurch hervorgerufen worden sei, dafs in einem dem meinen ähnlichen Falle das Zahnbein vom Bakterieninfarkt zwar infiziert, aber nicht vollgepfropft wurde, so dafs die Schnitte die von Miller beschriebene Form aufwiesen (Fig. 3).

Ich mufs ferner noch einen Punkt hervorheben, der bei Millers Untersuchungen unklar ist und wahrscheinlich auf ungenauer Interpretation der Präparate und mangelhafter Technik in den Kulturmethoden beruht. Miller schreibt, nachdem er die Fransen von Bakterienfäden am Rande des kariösen Zahnbeins geschildert hat, folgendes: »Untersuchen wir eine etwas tiefer gelegene Zone, so finden wir die Kanälchen meist mit Mikrokokken und Stäbchen gefüllt, erstere aber entschieden vorherrschend.« Diese Angabe von Miller, dafs in den mikroskopischen Präparaten die Mikrokokken vorherrschen, sollte erwarten lassen, dafs auch bei den Kulturmethoden am meisten Kokken zutage träten. Das ist indessen nicht der Fall und sowohl bei der Beschreibung seiner eigenen Versuche wie auch jener von Vignal und Galippe, ferner auch jener von C. Jung kommt Miller zum Schlusse, dafs die Kulturen sowohl auf Agar wie auf Gelatine fast ausschliefslich Bazillen zutage gefördert haben. Auf 18 Untersuchungen von kariösen Zähnen, die von Vignal und Galippe angestellt wurden, war z. B. nur fünfmal ein grofser Kokkus vorhanden und das nur bei solchen Zähnen, wo die Karies schon bedeutend vorgeschritten war und die Kanälchen schon sehr erweitert waren. Bakterien wurden dagegen in jedem Falle beobachtet. Ungefähr gleich lauten die

Untersuchungen von Miller und Jung. Millers Angabe, dafs man viele Präparate finde, die beinahe ausschliefslich Kokken zeigen, ist daher schwer verständlich. Wir müssen also auch hier die früher von uns geäufserte Annahme gelten lassen, dafs es sich auch in den Fällen, wo Miller ausschliefslich Kokken vorzufinden glaubte, um Bazillen gehandelt habe, die degeneriert waren, und deshalb sich nur stellenweise und nur punktförmig färben liefsen. Auf alle Fälle sind wir nach Durchmusterung von vielen Präparaten zur Überzeugung gekommen, dafs die bazilläre Infektion bei der Karies eine viel gröfsere Ausdehnung hat als die Infektion durch Kokken.

Auch mit folgendem Passus von Miller kann ich mich nicht einverstanden erklären: »Diese beiden Bakterienarten kommen gewöhnlich in getrennten Kanälchen vor; so sehen wir häufig das eine nur mit Mikrokokken, das daneben liegende nur mit Stäbchen vollgepfropft, doch findet man auch Kanälchen, die mit einer Mischung beider Arten angefüllt sind. Selten sieht man das eine Ende des Kanälchens mit Stäbchen, das andere mit Kokken gefüllt.« Was für Miller die Ausnahme wäre, ist aber für unsere Untersuchungen die Regel, nämlich die Mischinfektion von Kokken und Stäbchen in ein und demselben Kanälchen (Fig. 9).

Was ich am meisten hervorheben möchte und wovon in den Millerschen Untersuchungen keine Rede ist, ist das häufige Auftreten in den mikroskopischen Präparaten von Köpfchenbakterien, die, wie aus meinen kulturellen Untersuchungen als sehr wahrscheinlich hervorgeht, Putrificusarten darstellen (Fig. 6 und 7).

Weitere Formen, die von Miller keine Berücksichtigung fanden, sind ebenfalls sporenhaltige Bazillen, die, blafs gefärbt, hie und da, aber immerhin seltener als die Köpfchenbakterien, sich in den Präparaten zeigen. Einigemal sah ich in meinen Präparaten typische Klostridienformen, welche gleichfalls schwach gefärbt erschienen. Im Widerspruch zu der oben angegebenen Behauptung von Miller habe ich in meinen Präparaten von kariösem Zahnbein auch Spirillen und schön gewundene Spiro-

käten wahrgenommen. Wenn man einmal die Aufmerksamkeit auf alle diese Formen lenken wird, die nach meinem Dafürhalten zu den Anaëroben gerechnet werden müssen, werden dieselben sicher häufiger vorgefunden werden (Fig. 8).

Künstliche Zahnkaries.

Schon seit 1867 hatte Magitot verschiedene Experimente vorgenommen, um die Wirkung der Säuren, der Salze und verschiedener Gärungsprodukte von Kohlehydraten und Eiweifsstoffen auf die Zähne zu studieren. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, dafs sich mittels verschiedener Substanzen an den Zähnen Veränderungen hervorrufen liefsen, welche makroskopisch denjenigen der Zahnkaries ganz ähnlich waren. Er schrieb diese Veränderungen der Wirkung von Säuren zu. Bei den Gärungen würden die Säuren von den Gärungserregern gebildet, auf Kosten der vergärenden Substanzen. Milles und Underwood konstruierten einen grofsen Inkubator, in welchem sie während 6 Monaten eine Mischung von Milch, Brot, Fleisch, Speichel und kariösen Zähnen bei Bruttemperatur liefsen. Sie mufsten aber erklären: »Nachdem dieses höchst unappetitliche Experiment 6 Monate fortgesetzt worden war, verbreitete die Fäulnis des Inhalts in dem Behälter einen so üblen Geruch, dafs wir genötigt waren, das Experiment aufzugeben. Meine Gesundheit hatte dadurch gelitten, da ich jener schlechten Ausdünstung anhaltend ausgesetzt war.« Mit diesem Experiment konnte aber keine der Zahnkaries ähnliche Veränderung verursacht werden.

Miller bemerkte hiezu richtig: »Es mufs einem jeden ohne weiteres einleuchten, dafs ein solcher Versuch gänzlich mifslingen mufste, da man in einem faulenden Gemisch nimmermehr Karies wird erzeugen können. Es fehlt dazu die nötige Säure.« Miller wiederholte dann den Versuch, indem er denselben in geeigneter Weise abänderte.

Er zerschnitt Zähne, welche von Karies frei waren, in kleine Stücke und stellte dieselben in eine Mischung von Brot und Speichel. Diese Mischung wurde 3 Monate lang bei einer Tem-

peratur von 37° C gehalten und während dieser Zeit verschiedenemal erneuert. Nach dieser Zeit beobachtete man bei fast allen Stücken mehr oder weniger deutliche Veränderungen. Bei vielen konnte man diese künstlich kariös gemachten Zähne von auf natürlichem Wege kariös gewordenen unmöglich unterscheiden. Als einziger Unterschied zwischen künstlicher und natürlicher Karies ergab sich, dafs das künstlich kariös gemachte Zahnbein nicht die Jodreaktion gibt. Wie soll man sich nun die künstlich hervorgerufenen Veränderungen der Zähne erklären?

Die harte Zahnsubstanz, welche bekanntlich aus Calciumphosphatkarbonat besteht, wird von den bei den Gärungsprozessen gebildeten Säuren angegriffen und gespalten; die harte Zahnsubstanz würde also bei den Gärungen sich so verhalten wie der kohlensaure Kalk, welcher in den Kulturen zugesetzt wird, um die gebildete Säure zu neutralisieren. Die Hinzufügung von kohlensaurem Kalk ist von vielen Autoren empfohlen worden, um eine Peptonisierung von Eiweifssubstanzen durch Reinkulturen von peptonisierenden Bakterien oder auch durch Mischkulturen von diesen letzteren mit anderen Bakterien zu ermöglichen. Die Säure, welche in diesen Experimenten hauptsächlich die Entkalkung der Zähne hervorruft, ist die Milchsäure, was man schon im voraus aus dem Umstande annehmen konnte, dafs durch Gärung der Kohlehydrate im Munde hauptsächlich Milchsäure gebildet werde; überhaupt ist diese Säure das Hauptprodukt bei den meisten Aërobien- und Anaërobiengärungen. Den Beweis für diese Anschauung kann man durch die Ewaldsche Probe oder durch andere chemische Verfahren liefern; anderseits weifs man, dafs die Zahnsubstanz in verdünnten Lösungen von Milchsäure schnell entkalkt wird. Sind die Zähne auf einem Gebiet einmal entkalkt und hat das Calciumphosphatkarbonat die Acidität der Lösung entweder neutralisiert oder abgeschwächt, so sind die günstigsten Bedingungen geschaffen für die Wirkung der peptonisierenden Fermente der Bakterien. Es mufs aber hervorgehoben werden, dafs die Aërobien allein, wenn sie auch die Entkalkung verursachen könnten, doch niemals imstande wären, die organische Substanz der Zähne aufzulösen. Diese

Arbeit wird von den anaëroben Bakterien geleistet. Dieser Punkt ist eigentlich das wichtigste Ergebnis unserer Untersuchungen. Aus dem Versuch von Miller wurde man einigermafsen orientiert, in welcher Weise die Karies vor sich gehe. Über die eigentlichen Erreger derselben wufste man aber gar nichts, da dieser Autor niemals mit Reinkulturen Zahnkaries hervorgerufen katte. Das Fehlen der Jodreaktion wurde von Miller richtig erklärt, welcher annahm, dafs von den vielen Bakterienarten, die sich beim Kariesprozefs beteiligen, die eine wenigstens, welche die Jodreaktion bedinge, aufserhalb des Mundes nicht zu wachsen scheine. Diese Erklärung müssen wir nur insofern verändern, dafs wir sagen, dafs diejenigen Arten, welche die Jodreaktion bedingen, aufserhalb des Mundes unter aërobiotischen Zuständen nicht wachsen können.

Einen anderen Punkt möchten wir erwähnen, der von Miller falsch erklärt wurde und der scheinbar mit unserer obigen Feststellung, dafs die Fäulnisanaërobien die Ursache der Karies sind, im Widerspruch steht. Miller schreibt: »Bewahrt man einen frisch extrahierten kariösen Zahn in einer faulenden Eiweifslösung längere Zeit auf, so hört die Erweichung des Zahnbeins vollkommen auf, während das schon erweichte Zahnbein allmählich verschwindet.« Diese Tatsache wurde von Miller ins Treffen geführt, um die Fäulnistheorie zu bekämpfen. Dabei hat aber der Genannte übersehen, dafs es Fäulnisanaërobien gibt, wie z. B. Bacillus bifermentans sporogenes, welche imstande sind, beide Aufgaben zu erfüllen, welche also Kohlehydrate zu vergären vermögen wie auch Eiweifs zu zersetzen. Im Munde fehlt die Säurequelle niemals, welche in den künstlichen Untersuchungen der obenerwähnten Autoren natürlich nicht vorhanden war, weil hier bei der Gärung der Eiweifsstoffe die Verhältnisse der verschiedenen Bakterien zueinander ganz andere waren als im Munde. Deshalb ist auch die folgende Behauptung Millers gar nicht zutreffend: »Die Auffassung, dafs beim Zerfall der Pulpa die zur Erweichung des Zahnbeins nötige Säure gebildet wurde, ist unhaltbar. Einmal, weil die Reaktion putrider Pulpen stets alkalisch ist, sodann weil im Fall eine saure Reaktion unter ganz

besonderen Umständen auftreten sollte, alle Bakterien der Pulpa ihr Leben einbüfsen würden, bevor nur ein Bruchteil der zu der obenerwähnten Entkalkung erforderlichen Säuremenge gebildet würde.« Die Behauptung, dafs die Bakterien durch die gebildete Säuremenge getötet würden, ist hinfällig, wie wir schon in unserer vorläufigen Mitteilung dargetan haben. Wie wir damals berichteten, gibt es unter den Mundanaërobien solche, welche in 2 % milchsäurehaltigen Nährböden gut gedeihen, einige darunter, die sogar in Nährböden von 3 % dieser Säure wachsen können. Die Tatsache, dafs die Reaktion putrider Pulpen stets alkalisch sei, läfst sich dadurch erklären, dafs die beim Zerfall der Pulpa gebildete Säure vom Zahnsalze gebunden wird. Dafs übrigens bei der Fäulnis auch Säure gebildet werden kann, ist durch die in jüngster Zeit erschienene Abhandlung von Gottlieb Salus bewiesen worden.

Die Frage, ob die Zahnkaries durch einen spezifischen Mikroorganismus bedingt sei oder ob dieselbe von verschiedenen Bakterien hervorgerufen werden könne, haben sich viele Autoren vorgelegt. Klenke beschrieb im Jahre 1850 eine Protokokkusart, welche Schmelz und Zahnbein in ähnlicher Weise verflüssigen sollte, wie der Hausschwamm das Holz der Möbel erweicht. Klenke sagt: »Wir haben in dem Prozefs, welchen ich der Kürze wegen Destructio dentis vegetativa nennen will, den Pilz vor uns, der durch seine Vegetation die Zahnmasse erweicht und zerstört und aus den chemischen Elementen derselben sich selbst ernährt; es ist dieser Parasit ein wahrer Protococcus dentalis.« Die folgenden Forscher, unter denen hauptsächlich Miller, Vignal, Galippe und Jung zu erwähnen sind, sind hierin etwas vorsichtiger gewesen. Das Ergebnis der von diesen Autoren angestellten Untersuchungen läfst sich im folgenden Wort von Galippe zusammenfassen: »Il n'y a point un parasite de la Carie, il y a des parasites de la Carie.« Dem möchte auch ich beipflichten, mit der Einschränkung jedoch, dafs einzelne bestimmte Arten und gerade diejenigen, welche von diesen Autoren aus den obenerwähnten Gründen übersehen worden sind, notwendigerweise vorhanden sein müssen. Mit

diesem Vorbehalt kann man auch die Millersche Definition der Zahnkaries annehmen, die also lautet: »Die Zahnkaries ist ein chemisch-parasitärer Vorgang, bestehend aus zwei deutlich ausgeprägten Stadien: der Entkalkung resp. Erweiterung des Gewebes und der Auflösung des erweichten Rückstandes«, — und der wir also nur anzufügen hätten: bedingt hauptsächlich durch die Tätigkeit der anaëroben Bazillen.

Die Richtigkeit dieser Auffassung geht auch aus folgenden Experimenten hervor. Ich entkalkte Zähne mittels 5—10proz. Salzsäure und nach stattgehabter Entkalkung neutralisierte ich die saure Reaktion der Zähne, indem ich dieselbe in einem Kolben Wasser, welches mit einigen Tropfen Ammoniak alkalisch gemacht wurde, einen Tag lang liefs. Nachher tat ich die Zähne in Bouillonreinkulturen von Bacillus proteus vulgaris, Bacillus fluorescens liquefaciens und von den gewöhnlichen Eiterkokken hinein. Eine vollständige Peptonisierung des Zahnknorpels konnte auch nach Verlauf vieler Wochen nicht beobachtet werden. Auch bei Verwendung von Mischkulturen der aëroben Bakterien, die aus Agarplatten isoliert wurden, konnte kein besseres Resultat erzielt werden. Dagegen gewann ich eine vollständige Peptonisierung der erkalkten Zähne durch Anwendung von Reinkulturen des aus dem Munde isolierten Bacillus putrificus wie auch von Mischkulturen der von mir rein gezüchteten anaëroben Bazillen der Buttersäuregruppe. Das Ausbleiben der Peptonisierung bei den Versuchen mit Aëroben konnte nicht durch die Säurebildung allein erklärt werden, obwohl dieselbe gewifs eine grofse Rolle spielt, was sich auch dadurch kundgab, dafs schon nach viertägigem Aufenthalte im Brutschrank eine deutliche Gasbildung bemerkbar war. Dieselbe war auch in den mit Reinkulturen von Kokken angestellten Versuchen aufgetreten und die Reaktion des Nährbodens war auch hier deutlich sauer. Aber selbst nach wiederholter Neutralisierung des Substrates waren weder die Kokken noch die Mischung der aëroben Bakterien imstande, das Zahnbein so zu verändern, wie dies die Anaëroben allein bewirkten. Andere Versuche machte ich mit vollständig gesunden Zähnen, welche ich in Röhrchen, die sich von den Gruberschen nur

durch Erweiterung des Halses unterschieden, steckte und dieselben bei 100° eine ½ Stunde lang im Kochschen Topfe sterilisierte. In diese Röhrchen brachte ich noch 10 ccm 2proz. Zuckerbouillon, der ich ferner einige Zuckerkristalle beifügte. Solche Kulturen wurden mit den isolierten Anaëroben und hauptsächlich mit Bacillus bifermentans sporogenes infiziert und dann das Vakuum hergestellt. Nach 4—6wöchigem Aufenthalt bei 37° wurden die Zähne untersucht. Der Schmelz war von den Bakterien nicht angegriffen, dagegen waren die Wurzeln der Zähne so erweicht, dafs sie mit einem Seziermesser zerschnitten werden konnten.

Sie zeigten ferner alle die makroskopischen Veränderungen, welche der Karies eigen sind.

Wenn die mit den Anaëroben eingeimpfte Zuckerlösung, die beim Öffnen der Gruberschen Röhrchen sehr übelriechend war und sauer reagierte, alkalisch gemacht wurde, konnte man bei zweckmäfsiger Erneuerung der Flüssigkeit eine vollständige Zerstörung des Zahngewebes hervorrufen, welche als wahre Fäulnis anzusehen war. Somit ist die Annahme, dafs die Zähne aufserhalb der Mundhöhle nie faulen, widerlegt.

Die grofse Bedeutung der Reaktion des Substrats für die Tätigkeit der anaëroben Mikroorganismen sowohl bei den im Munde sich abwickelnden Prozessen wie auch bei den verschiedenen durch genannte Mikroorganismen im Magen und Darmtraktus hervorgerufenen Erscheinungen werde ich in der folgenden Mitteilung auseinandersetzen.

Berichtigung.

In der Fufsnote 1 auf S. 355, Zeile 1 und 4 von unten lies statt mikroskopisch makroskopisch.

Literatur.

Achalme. Annales de l'Institut Pasteur. Année XVI, 1902.

Bandisch. Berl. Klin. Woch. Zitiert nach P. Ritter.

Beijerinck. Ref. Kochs Jahresberichte d. Gärungsorganismen, 1893, S. 364

Beitzke. Zentralbl. f. Bakt. Referate, 1904.

Bienstock. Archiv f. Hygiene, Bd. 36, 1899 u. Bd. 39, 1901.

Frosch. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 13.

Konrad. Archive of Dentistry, 1886.

Lewkowicz Ksawory. Ref. Bull. Ann. Pasteur., 1903, 30/12.

Matzenauer. Archiv f. Dermath. u. Syph., 1901.

Miller. Die Mikroorganismen der Mundhöhle. G. Thieme, 1892.

Miller u. Underwood. Zitiert nach Miller.

Nencki u. Lachewicz. Pflügers Archif f. d. ges. Phyriologie, Bd. 33.

Pfaff. Abhandlung der Zähne, 1756.

Passini. Jahrb. f. Kinderheilk, N. F. 57, H. 1.

Plaut. Handbuch d. pathog. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann, Bd. 1.

Rasmussen. Om Dryking af Mikroorganisme fro Spyt af sunde Menesker, 1883.

Rodella. Bakteriologische Befunde im Eiter eines gashaltigen Abszesses. Zentralbl. f. Bakt., 1903, Nr. 3. — Il bacillo fusiforme di Vincent Reale Società ital. d'igiene, 1903, Nr. 3. — Einiges zur Technik der bakt. Untersuchungen der Mundhöhle. Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 37, 1904.

Salus. Archiv f. Hygiene, 1904.

Schattenfroh u. Grafsberger. Ebendaselbst, Bd. 37, 1900 u. Bd. 48 1903.

Spiegelberg. Zitiert nach P. Ritter.

Tissier. Annales de l'Institut Pasteur, 1902 et 1903.

Vignal u. Galippe. L'odontologie, März 1889.

Veillon et Zuber. Archives de pathologie.

Wedl. Pathologie der Zähne. Zitiert nach Miller.

Erklärung zu Tafel V.

Fig. 1. Kariöses Zahnbein. Querschnitt. Viele den Streptokokken ähnliche Gebilde sind bei näherer Betrachtung als Leptotrix- bzw. Streptotrixfäden aufzufassen. Färbung mit der Noggeratschen Mischung.

Fig. 2. Querschnitt durch einen stark kariösen Zahn. Die Infektion erfolgt in der Richtung der Zahnbeinkanälchen und auch parallel der Schnittfläche. Karbolthioninfärbung.

Fig. 3. Zuckerhutähnliche Infektion des Zahnbeins. Gramsche Färbung.

Fig. 4. Querschnitt durch einen Backenzahn. Deutliche Leptotrix- und Streptotrixfransen (meistenteils Involutionsformen) am Rande des Zahnes. Durchwucherung der Grundsubstanz mit Kokken, plumpen Bazillen, schmalen Bazillen und einigen Köpfchenbakterien. Gramsche Färbung.

Fig. 5. Schöne Fäden am Rande des Zahnbeines. Noggeratsche Färbung.

Fig. 6. Querschnitt durch einen Backenzahn; zeigt die Kanälchen fast ausschliefslich mit Bazillen infiziert. In der äufsersten Partie des Präparats neben schlanken Bazillen sind verschiedene Kokkenformen zu erkennen. Zwei Köpfchenbakterien (Putrifiensarten) treten sehr deutlich hervor, andere sind in den Kanälchen mit verschiedenartigen Bakterienformen vermischt. Färbung mit der Noggeratschen Mischung.

Fig. 7. Querschnitt durch einen Backenzahn; zeigt sehr viele Köpfchenbakterien (Putrifiensarten), spirochätenähnliche Gebilde, Streptotrixarten, schlanke Bazillen und wenige Kokken. Karbolthioninfärbung.

Fig. 8. Querschnitt durch einen Spitzzahn. Es war in dem Zahn wie ein Nest von feinen Spirillen und anderen Formen, die ich nicht erkennen konnte (Degenerationsformen? Kunstprodukte?). Färbung mit der Noggeratschen Mischung.

Fig. 9. Querschnitt durch einen Backenzahn. Die einzelnen Kanälchen sind mit Bazillen und Kokken vollgepfropft. Karbolthioninfärbung.

Die Zeichnungen wurden von Herrn Dr. med. Marangoni der Kgl. Chirurgischen Klinik zu Padua ausgeführt.

Vergröfserung der Fig. 8: Reichert, Oc. 8, Imm. $^1/_{15}$,
» » » 9: Reichert, » 6, » $^1/_{15}$.

Sämtliche übrigen Abbildungen wurden mit Oc. 4, Imm. $^1/_{12}$ gezeichnet.

Bei der Reproduktion der Tafel V, Figur 6, sind leider einige Köpfchenbakterien, die im Original deutlich sichtbar waren, ausgeblieben.

Über die Grenzen der Verwendbarkeit des Malachitgrün-agars zum Nachweise der Typhusbazillen im Stuhle.

Von

Dr. med. **K. Nowack.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Nachdem Löffler [1] einen Malachitgrünagar zum kulturellen Nachweise der Typhusbazillen in Fäces, Wasser und Erde empfohlen hatte, haben Lentz u. Tietz [2] an Typhusstühlen die Löfflersche Methode nachgeprüft und eine besondere Untersuchungsmethode geschaffen, mit der sie Typhusbazillen noch nachweisen konnten, wo das v. Drigalski-Conradische [6] Verfahren versagte. Jorns [3] konnte bei seinen Versuchen mit künstlichen Typhusstühlen, bei denen er die Zahl der vorhandenen Typhusbazillen genau kannte, diese nach dem Verfahren von Lentz u. Tietz noch nachweisen bei einem Verhältnis der Typhusbazillen: Stuhlkeimen = 1 : 8000, während ihm, ebenso wie Ficker u. Hoffmann [5] (zitiert nach Klinger), der Nachweis der Typhusbazillen nach dem Verfahren von v. Drigalski-Conradi nur bis zu dem Verhältnis von 1 : 300 gelang. Schliefslich kam auch Klinger [4], der an Typhusstühlen vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit der neueren Methoden zum Nachweise der Typhusbazillen in den Darmentleerungen anstellte, zu dem Resultate, dafs die Lentz u. Tietzsche Methode die leistungsfähigste sei; er verlangt aber eine ganz bestimmte Reaktion des Agars.

Diese von Klinger zuerst aufgestellte Forderung nach einer ganz bestimmten Reaktion des Agars forderte zur Nachprüfung auf, weil seine Resultate bei den vergleichenden Untersuchungen über die Einwirkung des Malachitgrünagars auf das Wachstum der Typhus- und Kolibazillen mit den von Jorns gefundenen nicht übereinstimmen. Jorns fand ebenso wie Löffler, dafs Typhusbazillen bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 der Höchster Farbwerke von 1 : 1000 noch auswuchsen, Kolibazillen aber nicht. Dagegen stellte Klinger fest, dafs auf lakmusneutralem mit 0,1 % (= 1 : 1000) desselben Malachitgrüns versetztem Agar Typhusbazillen in 24 Stunden nicht, Kolibazillen aber verhältnismäfsig gut und dafs bei 0,08 % (= 1 : 1400), 0,07 % (= 1 : 1600), 0,06 % (= 1 : 1800) und 0,05 % (= 1 : 2000) die Typhusbazillen zwar immer besser, die Kolibazillen aber noch üppiger auswuchsen.

Die folgende Tabelle giebt eine vergleichende Übersicht über die Zusammensetzung des Agars und die verwendete Sorte und Menge des Malachitgrüns bei den bisherigen Untersuchern. Diejenigen Angaben, welche in den betreffenden Arbeiten nicht ausdrücklich gemacht sind, deren Annahme aber berechtigt ist, sind in der Tabelle mit einem ? versehen.

(Tabelle siehe Seite 376.)

Ich verwendete wegen der viel gröfseren Billigkeit ebenso wie Klinger Liebigs Fleischextrakt bei der Herstellung des Agars, da das ebenfalls billige Pferdefleischwasser nach Ficker wegen seines hohen Zuckergehaltes das Wachstum des Bacillus coli sehr begünstigt. Die Bereitung des Agars geschah folgendermafsen: In einem 2 l Kolben wurden 1 l destilliertes Wasser, 5 g Kochsalz, 10 g Pepton sicc. Witte, 10 g Liebigs Fleischextrakt und 20 g Stangenagar gegeben und im kochenden Wasserbade oder schneller im siedenden Kochsalzbade (gesättigte Kochsalzlösung vom Siedepunkt 107°) gelöst. Genau 20 ccm des flüssigen Agars wurden mit $^1/_5$ Normalnatronlauge bis zum Phenolphhtaleinneutralpunkte titriert und zu dem übrigen gemes-

Tabelle I.

Name des Untersuchers	Zusammensetzung des Agars	Neutralisationsmittel	Reaktion des Agars	Bezeichnung des Malachitgrüns der Höchster Farbwerke	Konzentration, bei der Typhusbazillen nicht mehr auswuchsen	Konzentration, bei der Typhusbazillen noch auswuchsen	Konzentration, bei der Kolibazillen nicht mehr auswuchsen	Konzentration, bei der Kolibazillen noch auswuchsen	Praktisch angewendete Konzentration
Löffler	gewöhnlicher 2 proz. Fleischwasserpeptonagar	Sodalösung ?	Lakmusneutral ?	Nr. 120 ?	—	1 : 1000 ?	1 : 4000 ?	—	1 : 1000 bis 1 : 4000
Lentz u. Tietz . .	gewöhnlicher 2 proz. Fleischwasserpeptonagar	Sodalösung ?	Lakmusneutral ?	I	1 : 2000	1 : 4000 erst nach 48° in kl. krustigen Kol.	1 : 8000	1 : 10 000 schwach	1 : 6000
Jorns	2 proz. Rindfleischnähragar	Sodalösung	Lakmusneutral	Nr. 120	—	1 : 1000	—	1 : 25 000 ganz vereinzelte	1 : 2500
				I a	—	1 : 10 000	—	1 : 2500 Kol. meist erst nach 48°	1 : 20 000
Klinger	4 proz. Agar mit 1 proz. Liebigs Fleischextrakt und Leitungswasser hergestellt	Normalnatronlauge	1 proz. Normalnatronlauge unter d. Phenolphthaleinneutralp.	Nr. 120	1 : 1200	1 : 1400 spärliche kaum sichtbare Kol.	1 : 1800	1 : 2000 spärliche kaum sichtbare Kol.	1 : 2000

Nach 24 Stunden

senen Agar die berechneten Mengen Normalnatronlauge — nur bei kleinen Mengen Agar der gröfseren Genauigkeit wegen $^1/_5$ Normalnatronlauge — zugesetzt. Der unverminderte Alkaligehalt der Natronlauge wurde vor jedesmaligem Gebrauche durch Titrierung gegen $^1/_5$ Normal- resp. Normalschwefelsäure festgestellt. Der Lakmusneutralpunkt des Agars lag bei 0,5—0,6% Normalnatronlauge, der Phenolphthaleinneutralpunkt bei 1,9—2,0% (einmal bei 2,2%) Normalnatronlauge; also lag der Lakmusneutralpunkt 1,3—1,5% (1,6—1,7%) Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte gegenüber etwa 1,6—1,8% des von Klinger verwendeten Agars. Wie viel Prozent Normalnatronlauge bis zum Phenolphthaleinneutralpunkte verbraucht wurden, darüber gibt Klinger nichts an. Nach dem Neutralisieren wurde der Agar zur Ausscheidung der Salze in ein kochendes Wasserbad gestellt und dann im Dampftopf durch Watte filtriert. Darnach wurde das Malachitgrün in wässeriger Lösung in der berechneten Menge zugesetzt. Gröfseren Mengen Agars wurde Malachitgrün Nr. 120 auch in Substanz hinzugefügt, dann aber aus den bei Klinger angeführten Gründen erst nach dem Erkalten des Agars, der dann noch einmal verflüssigt werden mufste. Wurde der fertige Malachitgrünagar auf Röhren gefüllt, so genügte es, diese einmal 15 Minuten zu sterilisieren.

Zur Verwendung kamen drei Sorten Malachitgrün von den Höchster Farbwerken.

Malachitgrün Kristalle extra	=	chemisch reines oxalsaures Salz des Malachitgrüns.
Malachitgrün Kristalle superfein	=	chemisch reines Chlorzinkdoppelsalz d. Malachitgrüns.
Malachitgrün Nr. 120	=	chemisch reines Chlorzinkdoppelsalz d. Malachitgrüns + ca. 95,2% Dextrin.

Malachitgrün extra und superfein wurden als 1 pro m., Malachitgrün Nr. 120 als 1 oder 2 proz. Lösungen in sterilem destillierten Wasser angewendet.

Die Versuchsanordnung war im wesentlichen dieselbe wie bei Jorns. Von 18—24 stündigen Bouillonkulturen des Typhusstammes 101 und des Kolistammes F wurden mittels Tropfgläsern Verdünnungen in sterilem Leitungswasser hergestellt und mit gleicher Tropfenzahl je zwei Schalen (ca. 9 cm Durchmesser) von gewöhnlichem Agar und Malachitgrünagar gegossen. Die Kolibazillen wurden in — meist erheblich — gröfserer Menge ausgesät als die Typhusbazillen, um den wirklichen Verhältnissen nach Möglichkeit Rechnung zu tragen. Durch Vergleichen der Zahl der ausgewachsenen Kolonien wurde das Verhältnis von Aussaat zu Ernte bestimmt; die zweite Schale diente zur Kontrolle für die gleichmäfsige Aussaat.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis der Versuche über die günstigste Reaktion des Malachitgrünagars für die Typhusbazillen.

Tabelle II.

Malachitgrün Nr. 120, 1 : 2000.

Reaktion des Agars in Prozent Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.	Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 42 Std.	Aussaat	Ernte nach 42 Std.
2,2 *	200	44 = 22 %	438	215 = 49,1 %
1,8 *	200	21 = 10,5 »	438	0
1,4 *	200	18 = 9 »	438	0
1,3 (Lakmusneutral)	363	42 = 11,6 »	2456	0
1,0	363	48 = 13,2 »	2456	0
0,8	363	59 = 16,3 »	2456	0
0,6 *	200	27 = 13,5 »	438	275 = 62,8 %

Der Phenolphthaleinneutralpunkt lag bei 1,9 % Normalnatronlauge, bei den mit * bezeichneten bei 2,2 %.

Zum Vergleich gebe ich einen Teil der Tabelle I aus der Klingerschen Arbeit wieder.

Malachitgrün Nr. 120 (Höchst).

Menge des Malachitgrüns in Prozent	0,07 %		0,06 %		0,05 %	
Reaktion des Agars in Prozent	Typh.	Koli	Typh.	Koli	Typh.	Koli
Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.	nach 24 Std.		nach 24 Std.		nach 24 Std.	
1,8 % (Lakmusneutral)	±	+	+	+	+	+
1,4 %	+	0	+	±	+	+
1,2 »	+	0	+	0	+	±
1,0 »	+	0	+	0	+	±
0,8 »	+	0	+	0	+	±
0,4 »	+	±	+	+	+	+

+ zahlreiche, gut ausgewachsene Kolonien,
± spärliche, kaum sichtbare Kolonien,
0 kein Wachstum.

Es geht daraus hervor, dafs bei stärker alkalischer Reaktion ein etwas höherer Prozentsatz von Typhusbazillen auswächst als auf lakmusneutralem Malachitgrünagar, dafs aber die Kolibazillen auch bei lakmusneutraler Reaktion vollständig zurückgehalten werden, während sie nach Klinger mindestens ebenso üppig wachsen wie die Typhusbazillen. Nur der überhaupt nicht mit Natronlauge versetzte — sauer reagierende — und der stark — fast bis zum Phenolphthaleinneutralpunkte — alkalisierte Malachitgrünagar begünstigte das Wachstum der Kolibazillen mehr als das der Typhusbazillen.

Auffallend war, dafs das Verhältnis von Aussaat zu Ernte so sehr hinter dem von Jorns angegebenen zurückblieb, der bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 von 1 : 2500 dieses wie 2 : 1 fand. Auch die von Klinger — Tabelle II in der Klingerschen Arbeit — angegebenen Zahlen der ausgewachsenen Typhusbazillen bleiben hinter den von Jorns erzielten Ernten bedeutend zurück.

Da bei Jorns und Klinger bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 von 1 : 2500 resp. 1 : 2000 Kolibazillen schon etwas wuchsen (siehe Tabelle I und Tabelle I der

Klingerschen Arbeit), sie aber bei meinen Versuchen auf Agar von bestimmter Reaktion bei 1 : 2000 noch vollständig zurückgehalten wurden, wurde versucht, ob sich durch Heruntergehen mit der Konzentration des Malachitgrüns das Verhältnis von Aussaat zu Ernte der Typhusbazillen bessern liefse. Die Versuche ergaben folgendes:

Tabelle III.

Reaktion des Agars 0,8% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp. Malachitgrün Nr. 120.

Konzentration des Malachitgrüns	Typhus			Koli		
	Aussaat	Ernte		Aussaat	Ernte	
		nach 22 Std.	nach 45 Std.		nach 22 Std.	nach 45 Std.
1 : 2500	900	95 = 10,6 %	100 = 11,1 %	2 300	0	0
1 : 3000	900	106 = 11,8 »	106 = 11,8 »	2 300	0	0
1 : 4000	91	—	24 = 26,4 »	66 000	—	9 = 0,014 %
1 : 4167	900	134 = 14,8 »	146 = 16,2 »	2 300	0	0 (auf d. 2. Schale 1)
	326	59 = 18,1 »	66 = 20,2 »	6 800	3 = 0,04 %	40 = 0,6 %
1 : 5000	500	71 = 14,2 »	73 = 14,8 »	2 730	0	7 = 0,3 »
	326	104 = 31,9 »	104 = 31,9 »	6 800	100 = 1,5 »	500 = 7,4 »
1 : 6250	500	96 = 19,2 »	—	2 730	945 = 35 »	—
1 : 7700	500	130 = 26 »	—	2 730	983 = 36 »	—

Jorns.

Konzentration des Malachitgrüns	Typhus		Koli
	Aussaat	Ernte	
1 : 2500	337	188 = 55,8 %	—
1 : 3000	14 397	10 075 = 69,8 »	deutliches Wachstum

Es wurden also auch mit bedeutend schwächeren Konzentrationen des Malachitgrüns Nr. 120, als Jorns anwendete, seine günstigen Ernten nicht erreicht. Es wurde beobachtet, dafs bei derselben Konzentration des Malachitgrüns die verschiedenen Ernten in ziemlich weiten Grenzen schwankten (siehe 1 : 5000), so dafs mitunter die Ernte bei einer höheren Konzentration

gröfser war als bei einer niedrigeren (siehe 1 : 4000, 1 : 4167 und 1 : 5000). Dem besseren Wachstum des Bacillus typhi entsprach jedesmal auch eine Begünstigung des Bacillus coli. Es wurde ferner festgestellt, dafs es für das Wachstum der Typhusbazillen wenig ausmacht, wo die Konzentration des Malachitgrüns zwischen 1 : 2000 und 1 : 5000 liegt. Mit Bezug auf das Wachstum der Kolibazillen ist hervorzuheben dafs, während bei einer Verdünnung von 1 : 4000 bis 1 : 5000 höchstens ein geringes Wachstum, meist erst nach ca. 48 Stunden, stattfindet, bei einer Konzentration von 1 : 6250 die Ernte gleich auf 35 % hochschnellt.

Bei einem Versuche, der mit verschiedenen Typhusstämmen zur Vergleichung der auf Malachitgrünagar erzielten Ernten angestellt wurde, zeigte es sich wiederum, dafs in keinem Falle das günstige Ergebnis Jorns' erreicht wurde und ferner, dafs die Ernten ganz verschieden ausfielen, wie die Zusammenstellung in folgender Tabelle zeigt.

Tabelle IV.

Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp. Malachitgrün Nr. 120, 1 : 4000.

	Aussaat	Ernte nach 45 Std.
Typhus Friedrichshain .	308	40 = 13 %
» Halle	123	36 = 29,3 »
» Drigalski . . .	181	10 = 5,5 »
» Trier I . . .	344	12 = 3,5 »
» Milz	324	34 = 10,5 »
» Niedlich . . .	207	53 = 25,6 »
» Jürgens . . .	267	31 = 11,6 »
» Timm	264	43 = 16,3 »
» Musehold . .	391	16 = 4,1 »
» 101	91	24 = 26,4 »
Koli F.	66 000	9 = 0,014 »

Das verschiedene Verhalten verschiedener Typhusstämme hinsichtlich des Wachstums auf demselben Malachitgrünagar hat auch Klinger in Tabelle II seiner Arbeit beschrieben, von der ich einen Teil mit einigen Zusätzen — die Umrechnung der

Ernte in Prozente — wiedergebe. Jorns, der sechs verschiedene Typhusstämme benutzte, erhielt stets übereinstimmende Resultate.

Malachitgrünagar 1,0 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.

Menge des Malachitgrüns in Proz.	0,06 %	0,05 %	Zahl der Kolonien auf der Lakmuspl.
Koli	0	600 kaum sichtbare Kol. = 6 %	unzählbar, mindestens 10 000
Typhus . . .	300 kleine Kol., die größten stecknadelkopfgroß = 3 %	800 meist gut ausgewachsene Kol. = 8 %	»
Typhus Ho .	500 gut ausgewachsene Kol. = 5 %	3000 gut ausgewachsene Kol. = 30 %	ca. 10 000
Typhus Be .	800 gut ausgewachsene Kol. = 20 %	1000 gut ausgewachsene Kol. = 25 %	» 4 000
Typhus Co .	0	26 gut ausgewachsene Kol. = 0,65 %	» 4 000

Mit Bezug auf die Jornssche Angabe, daß eine ca. 4 Wochen alte wässerige Lösung von Malachitgrün Nr. 120 die wachstumhemmende Wirkung auch gegenüber Typhusbazillen verstärkte, habe ich folgendes feststellen können.

Tabelle V.

Malachitgrün Nr. 120, 1 : 2000, 2 proz. wässerige Lösung.

Reaktion des Agars in Proz. Normalnatronlauge unter d. Phenolphthaleinneutralp.	13 Tage alte Lösung				frisch bereitete Lösung			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 43 Std.	Aussaat	Ernte nach 43 Std.	Aussaat	Ernte nach 43 Std.	Aussaat	Ernte nach 43 Std.
1,3 (Lakmusneutral)	363	42 = 11,6 %	2456	0	363	0 (auf d. 2. Schale 1)	2456	0
1,0	363	48 = 13,2 »	2456	0	363	0 (auf d. 2. Schale 2)	2456	0
0,8	363	59 = 16,3 »	2456	0	363	7 = 1,9 %	2456	0

Es trat also bei der frisch zubereiteten Lösung die wachstumhemmende Wirkung auf die Typhusbazillen stärker hervor; zu

beobachten ist auch hierbei der Einflufs der Reaktion des Agars. Bei denselben 18 resp. 5 Tage alten Lösungen war ein nennenswerter Unterschied in der Wirkung nicht mehr festzustellen.

Bei **Malachitgrün superfein** und **extra** verhielt sich das Wachstum der Typhus- und Kolibazillen bei verschiedenen Konzentrationen folgendermafsen.

Tabelle VI.

Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleïn-neutralp.

Konzentration des Malachitgrüns	Malachitgrün superfein				Malachitgrün extra			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 22 Std.	Aussaat	Ernte nach 22 Std.
1 : 50 000	334	7 = 2,1 %	21000	0				
1 : 100 000	334	45 = 13,5 »	21000	0	500	62 = 12,4 %	2730	0 (auf d 2.Schale1)
1 : 150 000	500	88 = 17,6 »	2730	990 = 36 %	500	86 = 17,2 »	2730	1060 = 39 %
1 : 200 000	500	202 = 40 »	2000	2000 = 100 »				

Es blieb also auch hier die erzielte Ernte von Typhusbazillen gegenüber den Jornsschen Erfolgen sowohl mit Malachitgrün Nr. 120 als auch mit Malachitgrün Ia (Aussaat: Ernte = 4 : 1) erheblich zurück.

Da Malachitgrün Nr. 120 ca. 95,2 % Dextrin enthält, wurden Versuche angestellt, welchen Einflufs ein höherer Dextringehalt des Malachitgrünagars auf das Wachstum der Typhus- und Kolibazillen ausübte. Als Malachitgrün wurde das dextrinfreie Malachitgrün superfein und Malachitgrün extra verwendet, von denen das erste auch im Malachitgrün Nr. 120 enthalten ist.

Das Dextrin wurde in hochprozentiger (25 %) wässeriger Lösung angewendet, um eine Verdünnung des Agars möglichst zu vermeiden; die Lösung wurde folgendermafsen hergestellt: 25 g Dextrin pur. von Schering wurden in 100 ccm destilliertem

Wasser im kochenden Wasserbade gelöst, filtriert und im Dampftopfe sterilisiert. Die berechnete Menge wurde dem flüssigen neutralisierten filtrierten Agar zusammen mit dem Malachitgrün mittels steriler Pipette zugesetzt.

Tabelle VII.

Reaktion des Agars 0,8% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp. — Malachitgrün superfein.

Menge des Dextrins in Prozent	Konzentration des Malachitgrüns	Typhus		Koli	
		Aussaat	Ernte nach 69 Std.	Aussaat	Ernte nach 69 Std.
—	1 : 50 000	334	11 = 3,3%	21 000	0
0,2	1 : 50 000	334	26 = 7,8 »	21 000	0
0,5	1 : 50 000	334	36 = 10,8 »	21 000	0
1,0	1 : 50 000	334	42 = 12,6 »	21 000	0
2,0	1 : 50 000	334	55 = 16,5 »	21 000	0

Konzentration des Malachitgrüns	Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
1 : 100 000	334	45 = 13,5%	21 000	0

Es wuchsen also bei Dextrinzusatz mehr Typhusbazillen aus als ohne und zwar wurde die Ernte um so gröfser, je mehr Dextrin zugesetzt wurde. Bei Zusatz von 1% Dextrin konnte die Konzentration des Malachitgrüns schon auf das doppelte erhöht werden, um das Auswachsen der gleichen Menge von Typhusbazillen zu erzielen. Von den in bedeutend gröfserer Menge ausgesäten Kolibazillen war auch nach 69 Stunden kein einziger ausgewachsen. Das Wachstum der Typhusbazillen war jedoch verhältnismäfsig gering.

Um nun einen höheren Prozentsatz von Typhusbazillen zum Auswachsen zu bringen, wurde bei Zusatz von 1 und 2% Dextrin mit der Konzentration des Malachitgrüns weiter heruntergegangen; dabei zeigte es sich, dafs Bacillus coli nicht mehr zurückgehalten wurde, sondern auch auswuchs und zwar in schneller Steigerung, so dafs er Bacillus typhi bald an Menge erreichte.

Tabelle VIII.

Reaktion des Agars 0,8% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleïnneutralp. Malachitgrün superfein.

Konzentration des Malachitgrüns	Menge des Dextrins in Prozent	Typhus		Koli	
		Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
1 : 100 000	1	334	62 = 18,6 %	21 000	2100 = 10 %
1 : 100 000	2	334	72 = 21,6 »	21 000	4500 = 21 »

Man sieht aus dem Versuche, dafs bei der nur halb so starken Konzentration des Malachitgrüns der Gewinn hinsichtlich der Typhusbazillen gegenüber dem vorigen Versuche (18,6 gegen 12,6 resp. 21,6 gegen 16,5%) nur gering ist, während Bacillus coli in erheblicher Menge auswächst. Ferner zeigt dieser Versuch, dafs es für Typhusbazillen wenig ausmacht, ob der Dextringehalt 1 oder 2% ist, dafs dagegen die Koliernte durch den doppelt so hohen Dextringehalt auch auf das Doppelte steigt. Infolgedessen sah ich mich nicht veranlafst, bei meinen Versuchen über einen Dextringehalt von 2% hinauszugehen.

Auch bei Dextrinzusatz zeigt sich der Vorteil der Reaktion des Agars von 0,8% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte gegenüber der lakmusneutralen, in diesem Falle 1,4% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte.

Tabelle IX.

Malachitgrün superfein 1 : 80000.

	Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.				Lakmusneutraler Agar (1,4 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.).			
Menge d. Dextrins in Prozent	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
0,5	500	68 = 13,6 %	2000	0	500	46 = 9,2 %	2000	70 = 3,5 %
1,0	500	95 = 19,0 »	2000	0 (auf d. 2. Schale 1)	500	80 = 16,0 »	2000	836 = 42 »
2,0	500	91 = 18,2 »	2000	7 = 0,35 %	500	101 = 20,2 »	2000	1336 = 67 »

Es zeigt sich auch hier wieder — wie bei der Anwendung des Malachitgrüns Nr. 120 (Tabelle II) —, dafs die Typhusbazillen auf dem stärker alkalischen Agar nur wenig besser wachsen als auf dem lakmusneutralen; dagegen wird Bacillus coli durch die lakmusneutrale Reaktion sehr begünstigt. Auch der ganz verschiedene Einflufs, den die Erhöhung des Dextringehaltes von 1 auf 2% auf Typhus- und Kolibazillen ausübt, tritt hier wieder sehr deutlich, wie im vorigen Versuche, hervor.

Schliefslich ist noch das verschiedene Verhalten von Typhus- und Kolibazillen bei kürzerer und längerer Bebrütungszeit zu erwähnen. Während die innerhalb 24 Stunden ausgewachsenen Typhuskolonien auch bei weiterem Aufenthalt im Brütschrank kaum eine Vermehrung erfuhren, wurde bei Bacillus coli festgestellt, dafs, wenn auch nach ca. 24 Stunden noch gar keine oder doch nur ganz vereinzelte Kolonien ausgewachsen waren, bei weiterer Bebrütung, nach 2—3 Tagen, ein recht erheblicher Prozentsatz ausgewachsen war.

Tabelle X.

Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp., Malachitgrün superfein.

Konzentration d. Malachitgrüns	Ohne Dextrin				+ 0,2 % Dextrin				+ 0,5 % Dextrin			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
1 : 100 000	331	45 = 13,5 %	21 000	0	334	48 = 14,4 %	21 000	0 (auf d. 2. Schale)	334	60 = 18 %	21 000	11 = 0,05 %
		" 69 " 47 = 14,1 "		" 69 " 3 = 0,014 %		" 69 " 57 = 17,1 "		" 69 " 1200 = 5,7 %		" 69 " 62 = 18,6 %		" 69 " 1056 = 5 "

Konzentration d. Malachitgrüns	+ 1,0 % Dextrin				+ 2,0 % Dextrin			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 22 Std.	Aussaat	Ernte nach 22 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
	Malachitgrün extra.							
1 : 80 000	500	42 = 8,4 %	2730	22 = 0,8 %	500	91 = 18,2 %	2000	7 = 0,35 %
		" 47 " 48 = 9,6 "		" 47 " 400 = 15 "		" 44 " —		" 44 " 779 = 39 "

Zusammenfassung.

1. Die stärker alkalische Reaktion des Agars — 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte — begünstigt das Wachstum der Typhusbazillen mehr und verhindert das Auswachsen der Kolibazillen besser als lakmusneutrale Reaktion bei gleicher Konzentration des Malachitgrüns; sie hat aber nicht die ausschlaggebende Bedeutung, die Klinger ihr beimifst.
2. Das Verhältnis von Aussaat: Ernte der Typhusbazillen = 2 : 1 resp. 4 : 1, wie bei Jorns, konnte bei den untersuchten Typhusstämmen auf keine Weise erreicht werden; die Ernte belief sich unter den günstigsten Verhältnissen nur auf ca. 20 %.
3. Während bei Klinger und Jorns Bacillus coli schon bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 von 1 : 2000 resp. 1 : 2500 nicht mehr vollständig zurückgehalten wurden, trat dies bei meinen Versuchen erst bei einer Verdünnung von 1 : 4000 — 1 : 5000 ein.
4. Malachitgrün superfein und extra waren in der Wirkung fast gleich, aber verschieden von dem von Jorns angewendeten Malachitgrün I a.
5. Die keimtötende Wirkung stärkerer Malachitgrünkonzentrationen wurde bei Malachitgrün superfein und extra bis zu einem gewissen Grade durch Dextrinzusatz abgeschwächt, so dafs durch stärkere Konzentrationen mit Dextrinzusatz dasselbe erreicht wurde wie durch schwächere ohne Dextrinzusatz. — Die im Malachitgrün Nr. 120 enthaltene Dextrinmenge ist absolut zu gering, um die Dextrinwirkung hervorzurufen.
6. Durch den Dextrinzusatz — namentlich höheren Grades — wurde Bacillus coli erheblich mehr begünstigt als Bacillus typhi; doch trat diese Wirkung erst bei einem bestimmten Grade der Verdünnung des Malachitgrüns ein.
7. Eine Überlegenheit der beiden reinen Malachitgrünsorten gegenüber dem Malachitgrün Nr. 120 wurde nicht beobachtet.

Bei den Versuchen mit künstlichen Typhusstühlen, d. h. normaler Stuhl, dem bestimmte Mengen Typhusbazillen zugesetzt waren, wurde folgendermafsen verfahren:

Der Stuhl wurde mit etwa der gleichen Menge Leitungswasser verrührt und von dieser Aufschwemmung oder dem von ihr hergestellten Filtrate eine abgemessene Menge und eine bestimmte Anzahl Tropfen der wie früher bereiteten Typhusverdünnung auf zwei — bei den ersten Versuchen nur eine — grofsen Malachitgrünagarschalen (α und β) mit dem Glasspatel (nach Drigalski) ausgestrichen. Die Schalen hatten einen Durchmesser von ca. 18 cm, wurden mit 40—50 ccm Malachitgrünagar beschickt und blieben bis zur vollständigen Erstarrung des Agars offen stehen; eine Verunreinigung durch Luftkeime tritt selbst bei stundenlangem Offenstehen nicht ein.

Zur Bestimmung der Zahl der ausgesäten Typhusbazillen und Stuhlkeime und des Grades der Zurückhaltung wurden wie früher Schalen (von ca. 9 cm Durchmesser) mit gewöhnlichem resp. Malachitgrünagar gegossen; nur bei den ersten Versuchen wurde der Grad der Zurückhaltung der Stuhlkeime auf einer grofsen mittels Oberflächenausstrich besäten Malachitgrünagarschale festgestellt.

Nach 16—24 Stunden wurde die grofse Malachitgrünagarschale, bei zwei Schalen meist die weniger dicht bewachsene β-Schale, nur wenn auf ihr zu wenig Kolonien waren, die α-Schale, nach Lentz u. Tietz in der Modifikation von Jorns mit 5 ccm steriler 0,9 proz. Kochsalzlösung — nur bei den ersten Versuchen mit steriler Bouillon — abgeschwemmt und je nach der Dichte der Schalen mehr oder weniger von der Abschwemmung auf 4 Endo-Agarschalen (α—δ) von ca. 9 cm Durchmesser ausgestrichen.

Der Endo-Agar wurde ebenfalls mit Fleischextrakt, nach dem Beispiele Klingers, sonst genau nach der Vorschrift des Erfinders bereitet, bis auf die Neutralisation, die — wie beim gewöhnlichen Agar — nach der Angabe von Clauditz schon vor dem Filtrieren stattfand. Ich habe mit Endo- und nicht

mit Drigalski-Agar gearbeitet aus den Gründen, die Endo [7], Petkowitsch [8], Clauditz [9], Klinger u. Marschall [10] als seine Vorzüge für den Typhusbazillennachweis gegenüber dem Drigalski-Agar übereinstimmend anführen. Nur in der Frage nach der wachstumshemmenden Wirkung des Endo- u. Drigalski-Agars auf die Typhusbazillen und Stuhlkeime gehen die Ansichten auseinander, so dafs nach Clauditz die Stuhlkeime auf »Endo« in bedeutend gröfserer Zahl auswachsen als auf »Drigalski«, während nach Klinger u. Marschall der Endo-Agar gerade eine erheblich stärkere Hemmung auf die Fäcesbakterien ausübt. Andrerseits wachsen Typhusbazillen nach Clauditz auf »Endo« ebenso oder vielleicht noch etwas mehr aus als auf gewöhnlichem Agar; auf »Drigalski« dagegen viel weniger; im Gegensatze dazu sagt Klinger: »Diese Wachstumsbehinderung — (der Fäcesbakterien auf Endo-Agar) — scheint sich auch auf schwächere Individuen des Typhusbazillus zu erstrecken . . . . bisweilen ist nur die Hälfte angewachsen.« Die Entscheidung dieser Frage ist um so wichtiger, als Lentz u. Tietz und vor allem Klinger (siehe Tabelle II seiner Arbeit) bei Anwendung des Malachitgrünagars die Menge der ausgesäten Keime nach der Zahl der von Drigalski-Agar geernteten Kolonien bestimmen.

Nach 16—20 Stunden wurde die orientierende Agglutinationsprobe mit den typhusverdächtigen Kolonien (in Tabelle XI als Ty.?-Kol. bezeichnet) direkt vom Endo-Agar angestellt, wobei festgestellt wurde, dafs jedesmal die ihrem Aussehen nach als Typhus anzusprechende Kolonie auch wirklich Typhus war, wiederum ein Beweis dafür, wieviel leichter infolge der weitgehenderen Differenzierung die Auffindung von Typhuskolonien auf Endo- als auf Drigalski-Agar ist. Nach dem positiven Ausfall der orientierenden Agglutinationsprobe wurde ein Agarstrich zur Anstellung der Agglutinationsprobe im Reagenzglase angelegt. Zur Agglutinationsprobe wurde trockenes agglutinierendes Typhus-Pferdeserum aus dem Kgl. Institute für Infektionskrankheiten vom Titer 1 : 8000 verwendet. Die orientierende Agglutinationsprobe wurde als positiv angesehen, wenn bei einer

Verdünnung des Serums von 1:500 sofort deutliche Haufenbildung eintrat. (Die Angaben über die Verdünnungen [mit 0,9 proz. steriler Kochsalzlösung] beziehen sich auf flüssiges Serum, das erhalten wurde durch Auflösen von einem Teil trockenen Serums in neun Teilen sterilen destillierten Wassers.) Die entscheidende Agglutinationsprobe im Reagenzglase wurde mit den Verdünnungen 1:500, 1:5000, 1:7500 und 0,9 proz. Kochsalzlösung angestellt. Bei beiden Agglutinationsproben wurde eine unter gleichen Bedingungen gewachsene Typhuskultur zum Vergleich in derselben Weise behandelt. Da derselbe Typhusstamm mit dem Stuhle ausgesät und zur Kontrolle benutzt wurde, wurde von weiterer Identifizierung durch Nährböden abgesehen.

(Tabelle siehe Seite 392.)

Ich konnte also noch bei einem Verhältnis der Typhusbazillen: Stuhlkeimen = 1:17000, 1:25000 und 1:50000 den Nachweis der Typhusbazillen führen, während es Jorns nach dem Verfahren von Lentz u. Tietz nur noch bei 1:8000 gelang. Dafs bei meinen Versuchen das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Stuhlkeimen als sehr ungünstig anzusehen ist, geht aus der Angabe von Lentz u. Tietz hervor, die einen Stuhl, von dem auf Drigalski-Agar das Verhältnis von Typhusbazillen: Stuhlkeimen = 4: ca. 2000 ist, als relativ arm an Typhusbazillen bezeichnen.

Das wesentlich Neue bei meinen Versuchen ist die erheblich gröfsere Menge des Aussaatmaterials. Lentz u. Tietz und Klinger säten wenig aus. Lentz u. Tietz versetzten Stuhl von Typhuskranken mit der doppelten Menge Kochsalzlösung und verrieben davon 0,1—0,2 ccm mit dem Glasspatel auf eine Malachitgrünplatte von 10 cm Durchmesser und 2 Drigalski-Platten von 20 cm Durchmesser. Klinger brachte eine grofse Öse einer Typhusstuhlaufschwemmung, die je nach der Konsistenz des Stuhles durch feines Verreiben mit mehr oder weniger steriler Kochsalzlösung hergestellt war, auf 2 bis

Tabelle XI.

Art u. Konzentration des Malachitgrüns	der Typhusverdünnung		der Stuhlaufschwemmung		Gesamtaussaatmenge in ccm	Tyb. : Stuhlkeime	Zahl der besäten Schalen	Aussaat		Ernte		Nach Stunden	Aussehen der abgeschwemmten Malachitgrünagarschalen	Aussaatmenge auf die Endoschalen	Aussehen der Endoschalen	nach Stunden	Nachweis der Tyb.
	Aussaatmenge	Keimzahl	Aussaatmenge	Keimzahl				Tyb.	Stuhlkeime	Tyb.	Stuhlkeime						
M. Nr.120 1 : 2000	5 Tr.	165	15 Tr. (Filtrat)	800 000	1,4	1 : 5 000	1	165	103	—	50 = 0,00 625 % (Oberflächenausstrich)	16	unter 100 Kol.	5 Tr.	2 grofse Schal., beide dicht, mehrere Ty. ?-Kol.	16	+
M. Nr.120 1 : 2500	5 Tr.	400	0,3 ccm	2 250 000	0,65	1 : 5 600	2	400	32 000	40 = 10 %	13 = 0,04 %	24	dicht	4 Ösen	auf β u. γ mehrere Ty. ?-Kol.	42	+
M. superf. 1 : 80 000	5 Tr.	140	10 Tr. (Filtrat)	2 430 000	1,0	1 : 17 000	1	140	13,5	—	30 000 = 1,23 % (Oberflächenausstrich)	20	dicht	5 Ösen	δ dicht 1 Ty. ?-Kol.	18	+
M. Nr.120 1 : 2500	5 Tr.	90	10 Tr.	2 200 000	1,0	1 : 25 000	2	90	15 400	26 = 29 „	450 = 2,9 %	21	dicht	2 Ösen	auf γ die wenigsten Kol. (ca. 125) 1 Ty. ?[1])	20	+
M. Nr.120 1 : 2500	5 Tr.	80	0,4 ccm	4 000 000	0,75	1 : 50 000	2	80	27 300	4 = 5 „	2,5 = 0,09 %	22	auf β wenig Kol., α abgeschw.	2 Ösen	auf γ mehrere Ty. ?-Kol.	17	+
M. Nr.120 1 : 2500	5 Tr	96	0,6 ccm (Bouillonanreicherung)	18 500 000	0,95	1 : 190 000	2	96	130 000	32 = 33 1/3 „	60000 = 46 „	18	sehr dicht	2 Ösen	6 kleine Schal., keine Ty. ?-Kol.	22	—

[1]) 2 Ösen auf 2 grofse Drigalski-Schalen, keine Ty. ?-Kol.

4 Platten von 20 cm Durchmesser. Trotzdem konnten Lentz u. Tietz 8 mal Typhusbazillen noch nachweisen, wo Drigalski versagte (zitiert nach Klinger) und Klinger bei der Untersuchung von 35 Stuhlproben von Typhuskranken

durch	Drigalski - Agar	12 mal	= 34,3 %
»	Endo-Agar . .	15 »	= 42,9 »
»	Vorkultur auf Malachitgrün-Agar	24 »	= 68,6 »

Es ist zu erwarten, dafs bei Erhöhung der Aussaatmenge das Malachitgrünverfahren noch bessere Resultate liefern wird, da der Grund für den Mifserfolg oft darin liegt, dafs in der geringen Aussaatmenge überhaupt keine Typhusbazillen enthalten sind, ein Umstand, auf den auch Klinger hinweist. Es ist nach meinen Versuchen sehr gut möglich 0,5—1,0 ccm auf zwei grofse Malachitgrünagarschalen auszusäen. Dabei sind die Nährböden billig, schnell und ohne Schwierigkeiten herzustellen und jede Anwendung des Verfahrens verbraucht nur 80—100 ccm Malachitgrün- und 30—40 ccm Endo-Agar. Es wäre ganz unmöglich, eine gleich grofse Aussaatmenge auf Endo- oder gar auf Drigalski-Agar zu bringen, ohne die Zahl der Schalen derart zu steigern, dafs schon der Verbrauch an Nährboden allein dieses Verfahren verbieten würde. Der Malachitgrünagar hat den grofsen Vorzug, dafs er in geeigneter Konzentration auf die Stuhlkeime sehr stark wachstumhemmend wirkt, wenn auch dabei, wie schon Jorns und Klinger feststellten, niemals alle ausgesäten Typhusbazillen auswachsen, sondern nach meinen Versuchen sogar nur ein geringer Prozentsatz. Der Nachweis der Typhusbazillen gelingt jedoch auch bei absolut geringer Zahl der ausgesäten Bazillen. Die Möglichkeit, viel Stuhlmaterial zur Aussaat verwenden zu können, dürfte besonders für Stuhluntersuchungen bei Typhusrekonvaleszenten wertvoll sein, da hier die mit kleinen Aussaatmengen erzielten Erfolge recht ungünstig sind. Klinger konnte in 17 Stuhlproben von Typhusrekonvaleszenten die Bazillen durch Drigalski-Agar, Endo-Agar, Vorkultur auf Malachitgrün-Agar

nur 2, 2 und 3 mal nachweisen. Den Nachteil, den das Malachitgrünverfahren gegenüber dem einfachen Plattenverfahren ebenso wie jede andere Vorkultur hat, dafs die Stellung der Diagnose um ca. 24 Stunden verzögert wird, möchte ich bei der grofsen Sicherheit, die diese Methode bietet, nicht allzu hoch bemessen.

Es ist noch zu erwähnen, dafs ich die Angaben Löfflers und Lentz u. Tietz über Unterscheidungsmerkmale der Typhuskolonien auf Malachitgrünagar nicht bestätigen kann; sie waren in keiner Weise weder nach 24 noch nach 48 Stunden von Koli- oder anderen Kolonien von Stuhlkeimen zu unterscheiden. Die Umwandlung des Grüns des Agars in helles Gelb, die Löffler und Lentz u. Tietz als eine spezifische Eigenschaft der Typhusbazillen und der Alkalibildner hinstellen, habe ich auch beobachtet, aber als eine Eigenschaft, die allen Bakterien zukam und auch nur bei dichtbewachsenen Schalen. Den Nachweis, dafs der dem Nährboden entzogene Farbstoff in den Kolonien abgelagert ist, kann man auf folgende Weise führen: Legt man eine solche Schale, auf der die Kolonien gelblichweifs und undurchsichtig sind, in eine Sublimatsalzsäurelösung — die im Institut gebräuchliche Desinfektionsflüssigkeit — so werden sämtliche Kolonien sofort intensiv dunkelgrün. Das Aufnehmen des Farbstoffes von den Kolonien erklärt auch die Notwendigkeit eine stärkere Konzentration des Malachitgrüns anzuwenden bei sehr starker Besäung, namentlich der Oberfläche, als bei Anlegung von Gufsschalen bei geringerer Aussaatmenge, bei welch letzterem Verfahren die Verteilung der Keime eine gleichmäfsigere und die Wachstumsbedingungen für die nicht an der Oberfläche liegenden schon an sich ungünstigere sind. Die wenigen von vornherein aufgehenden Kolonien entziehen in ihrer Umgebung dem Agar Farbstoff, wodurch den an dieser Stelle befindlichen geschädigten aber noch nicht abgetöteten Keimen ermöglicht wird, auf dem nunmehr für sie günstigeren Nährboden zu Kolonien auszuwachsen. Diese Kolonien bewirken nun wiederum dasselbe, so dafs schliefslich auf dem immer malachitgrünärmeren Agar viel mehr wächst, als nach der ursprünglichen Konzentration anzunehmen war.

Zusammenfassung.

1. Die für die praktische Verwendung geeignete Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 ist in Übereinstimmung mit Jorns und Klinger 1 : 2000 — 1 : 2500.
2. Malachitgrün superfein ist in entsprechend stärkerer Verdünnung ebenso gut brauchbar.
3. Die Stuhlaussaatmenge und damit die Leistungsfähigkeit der Malachitgrünmethode konnte erheblich gesteigert werden gegenüber den bisherigen Untersuchern.
4. Die Typhuskolonien sind auf Malachitgrünagar nicht von anderen Kolonien zu unterscheiden.
5. Als zweiter Nährboden hat sich Endo-Agar als sehr brauchbar erwiesen.
6. Der Malachitgrünagar eignet sich für die Fälle, in denen der Typhusbazillennachweis in sehr keimreichen Bakteriengemischen geführt werden soll, wo das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Begleitbakterien sehr ungünstig, nicht aber die absolute Zahl der Typhusbazillen eine zu geringe ist; für die Fälle, bei denen nur auf einige wenige und vielleicht sogar noch dazu geschädigte Typhusbazillen in der Aussaatmenge gerechnet werden kann, eignet der Malachitgrünagar sich nicht, selbst dann nicht, wenn Begleitbakterien in geringer Menge vorhanden sind.

Herrn Geheimen Medizinalrat Professor Dr. Rubner sage ich für das Interesse an meiner Arbeit, Herrn Professor Dr. Ficker für seine stets freundliche Unterstützung aufrichtigen Dank.

Literatur.

1. Löffler, Neues Verfahren zum kulturellen Nachweise der Typhusbazillen in Faeces, Wasser, Erde. Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 36, Vereinsbeilage.
2. Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungsmethode für Typhus- und Paratyphusbazillen. Münchener med. Wochenschr., 1903, Nr. 49, S. 2139.
3. Jorns, Über die Brauchbarkeit des Malachitgrün-Nähragars zum Nachweise von Typhusbazillen. Hygienische Rundschau, 1904, 14. Jahrgang, Nr. 15, S. 713.
4 Klinger, Über neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbazillus in den Darmentleerungen. Inaug.-Dissertat., Strafsburg 1904.
5. Ficker u. Hoffmann, Weiteres über den Nachweis von Typhusbazillen. Archiv f. Hygiene, Bd. 49, S. 229.
6. v. Drigalski u. H. Conradi, Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zeitschr. f. Hygiene, 1902, Bd. 39, S. 283.
7. S. Endo, Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1904, Bd. 35, S. 109.
8. Petkowitsch, Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1904, Bd. 36, S. 304.
9. Clauditz, Untersuchungen über die Brauchbarkeit des von Endo empfohlenen Fuchsinagars zur Typhusdiagnose. Hygienische Rundschau, 1904, 14. Jahrgang, Nr. 15, S. 718.
10. F. Marschall, Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1905, Bd. 38, Heft 3.





g 2

